



EESTI MAAÜLIKOOL
Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut

Piia Jairus

**EFEKTIIVSE KIU ALLIKA MÕJU PIIMA
JÕUDLUSNÄITAJATELE JA VATSAKESKKONNALE**
EFFECT OF THE SOURCE OF EFFECTIVE FIBRE ON MILK
PERFORMANCE AND RUMEN ENVIRONMENT

Magistritöö
Loomakasvatuse õppekava

Juhendajad: lektor Tiia Ariko, *MSc*
professor Meelis Ots, *PhD*

Tartu 2017

Eesti Maaülikool Kreutzwaldi 1, Tartu 51014		Magistritöö lühikokkuvõte	
Autor: Piia Jairus		Õppekava: Loomakasvatus	
Pealkiri eesti keeles: Efektiivse kiu allika mõju piima jõudlusnäitajatele ja vatsakeskkonnale			
Pealkiri inglise keeles: Effect of the source of effective fibre on milk performance and rumen environment			
Lehekülgi: 64	Jooniseid: 11	Tabeleid: 14	Lisasid:
Osakond: Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut			
Juhendaja(d): lektor Tiia Ariko professor Meelis Ots			
Kaitsmise kuupäev: 31.05.2017			
Lühikokkuvõte eesti keeles (150-250 sõna):			
<p>Efektiivne kiud kirjeldab optimaalse vatsakeskkonna tagamiseks vajaliku füüsilise kiu osakaalu söödas. Vatsakeskkond omakorda mõjutab otseselt veiste tervist ning toodanguvõimet. Magistritöö ülesanneteks oli anda ülevaade efektiivse kiu olulisusest lüpsilehmade söödaratsioonis, piimarasva rasvhappelisest koostisest, rasvhapete päritolust ning võimalustest kasutada neid biomarkeritena; võrrelda kahe erineva efektiivse kiu allika, odrapõhu ja rapsipõhu söötmise mõju piima toodangule, kvaliteedinäitajatele ja rasvhappelisele koostisele; kirjeldada lüpsilehmade vatsakeskkonda ning ainevahetust kasutades piima rasvhappelisel koostisel põhinevaid biomarkereid ja selgitada võimalust hinnata kiudaine seeduvust roojast Eesti farmitingimustes. Lüpsilehmadega viidi läbi kolme katseperioodi ja kahe katsegrupiga <i>crossover</i> söötmisskatse, võrreldes sarnase keemiliste koostiste, kuid erinevate efektiivse kiu allikatega (odrapõhk ja rapsipõhk) ratsioone. Piima- ja roojaproovid koguti iga katseperioodi kahel viimasel päeval. Uurimustöö käigus selgitati, et optimaalse toorkiu sisaldusega ratsiooni korral, on võimalik efektiivse kiu allikana kasutada nii odra- kui rapsipõhku ilma negatiivse mõjuta piima toodangule ja - kvaliteedinäitajatele. Piima rasvhappelisel profiilil baseeruvate biomarkerite abil prognoositud lenduvate rasvhapete tasakaal vatsas ei viita kummagi ratsiooni puhul äärmuslikele muutustele. Prognoositud metaani emissioon oli suurem efektiivse kiu allikana rapsipõhku sisaldava ratsiooni puhul. Üksiklehmade hulgas esines sõltumata kasutatud söödaratsioonist piima rasvade depressiooni ja viiteid võimalikule subkliinilise atsidoosi riskile. Magistritöö tulemuste põhjal saab soovitada rapsipõhu kasutamist efektiivse kiu allikana lüpsilehmade ratsioonis.</p>			
Märksõnad: efektiivne kiud, vatsa keskkond, piima rasvhappeline koostis, biomarker			

Lühikokkuvõte inglise keeles (150-250 sõna): Effective fibre describes the optimal contents of physical fibre in the diet for optimal rumen environment. The rumen environment has a direct effect on bovine health and production. The goal of the study was to give a review of the importance of effective fibre in dairy cow diet, towards milk fat fatty acid composition, fatty acid origin and using them as bio-markers, comparing the effect of feeding two different sources of effective fibre, barley and canola straw in relation to milk production, quality and fatty acid composition; describing dairy cows rumen environment and metabolism using bio-markers based on the milk fatty acid composition and evaluate the digestion of fibre in feces in Estonian farm conditions. Dairy cows participated in a three testperiods in two different groups as a part of crossover feeding experiment comparing similar chemical composition, but different source of effective fibre (barley and canola straw) in a diet. Milk and feces samples were collected on the last two days of each period. During the trial it was determined that a diet with optimal crude fibre contents could use barley and canola straw as a source of effective fibre without a negative effect on milk production and quality. Bio-markers based on the profile of milk fatty acids projected no extreme disturbance in the balance of rumen volatile fatty acids. Predicted methane emission was bigger when the source of effective fibre was canola straw. The risk towards milkfat depression and subclinical acidosis was noted on individual cows with no relation to the diet. As a result of the study canola straw can be recommended as a source of effective fibre in dairy cow diet.

Märksõnad: Effective fibre, rumen environment, milk fatty acid profile, biomarker

SISUKORD

SISSEJUHATUS	5
TÄNUAVALDUSED	7
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	8
1.1. Taimeraku kestaained	8
1.1.1. Weende süsteem	8
1.1.2. Detergentmeetod	9
1.2. Efektiivne kiud ratsioonis ja selle allikad	10
1.2.1. Efektiivse kiu allikad	11
1.2.2. Veise vats	13
1.2.3. Vatsakeskkond	13
1.2.4. Lenduvad rasvhapped vatsas	14
1.3. Piimarasv	14
1.3.1. Rasvhapete üldiseloomustus	15
1.3.2. Küllastunud ja küllastumata rasvhapped	16
1.3.3. Rasvhapete päritolu	17
1.3.4. Ensüüm Δ^9 -desaturaas	19
1.3.5. Hargnenud- ja paarituarvulise süsinikahelaga rasvhapped	19
1.3.6. Konjugeeritud linoolhape	20
1.3.7. Piimarasva depressioon	21
1.4. Piimarasva rasvhapped biomarkeritena	22
1.4.1. Mikroobse proteiini biomarkerid	23
1.4.2. Vatsafermentatsiooni ja mikroobioomi biomarkerid	23
1.4.3. Metaani emissiooni prognoosimine	24
1.4.4. Vatsa atsidoosi biomarkerid	24
1.4.5. Piimarasva depressiooni biomarkerid	25
2. MATERJAL JA METOODIKA	27
2.1. Katse ülesehitus ja katselehmade söötmine	27
2.2. Söödaproovide kogumine ja analüüs	30
2.3. Piimaproovide kogumine ja analüüs	31
2.4. LRH ning metaani arvutamine	33

2.5. Roojaproovide kogumine ja seedumatu kiu osatähtsuse hindamine	34
2.6. Statistiline analüüs	35
3. TULEMUSED JA ARUTELU	37
3.1. Efektiivse kiu allika mõju piimajõudlusele ja -kvaliteedinäitajatele	37
3.2. Efektiivse kiu allika mõju piima rasvhappelisele koostisele	37
3.3. Efektiivse kiu allika mõju vatsa lenduvatele rasvhapete profiilile ja metaani emissioonile	42
3.4. Piimarasva depressiooni ja SARA esinemise hindamine katsegruppides ja üksiklehmadel	44
3.5. Kiudaine seeduvus	48
KOKKUVÕTE	50
KASUTATUD KIRJANDUS	53
SUMMARY	62
LIHTLITSENTS.....	64

SISSEJUHATUS

Rasv on kõige kallim piima koostisosa, mistõttu on suure rasvasisaldusega piima tootmine piimaveisekasvatuses majanduslikult oluline. Samas on rasv ka piima kõige varieeruvam komponent (MacGuire ja Bauman 2003), mistõttu suure rasvasisaldusega piima tootmine nõuab laialdasi teadmisi söötmisest, veiste aretusest, ainevahetusest ja loomasõbralikest pidamistingimustest.

Kõrgetoodangulise piimalehma söötmine on läinud aastatega aina täpsemaks ning toodangutulemustele orienteeritumaks. Paljud piimatootjad täna lüpsilehmade ratsiooni enam põhku ei lisa ning suurema piimatoodangu nimel söödetakse loomadele kõrge jõusööda osakaaluga ratsiooni. Täppissöötmisel on siiski oluline leida tasakaal efektiivse kiu ning kiiresti lõhustuvate süsivesikute vahel, et vältida vatsa metabolismi häireid (Zabeli jt 2011). Lisaks odrapõhule, mis on seni heina kõrval populaarseim piimalehmade ratsiooni efektiivse kiu allikas, on ka Eestis, sarnaselt muule maailmale, hakatud kasutama rapsipõhku, mis on oma organoleptilistelt omadustelt hea kiudaine allikas tärgliserikka ratsiooni koostises.

Piimatootmise automatiseerimine on toonud kaasa vajaduse leida biomarkereid, mida saab lehmade ainevahetusliku seisundi hindamiseks määrata mitteinvasiivselt ning rutiinselt. Järjest suuremat tähelepanu pööratakse piima rasvhappelisele koostisele, kuna piimaproovide kogumine on lüpsilehmadel võimalik igapäevaselt ning piima rasvhapete erinev päritolu annab võimaluse potentsiaalsete markerite leidmiseks hindamiseks lehmade söötmist, vatsakeskkonda, ainevahetust ning ka tervislikku seisundit. Praktiliste rakendusteni jõudmiseks on vaja kontrollida potentsiaalsete biomarkerite kasutusvõimalusi tootmistingimustes. Lisaks aitab antud uurimisvaldkonna arengule kaasa piima rasvhappelise koostise määramise juurutamine tavapraktikas ning rutiinselt teostatavate meetodite laialdasem kasutuselevõtt (Fievez jt 2012).

Käesoleva magistritöö põhifookuses on võrrelda efektiivse kiu allika, odrapõhu ja rapsipõhu, kasutamist kõrgetoodangulistele lehmade söödaratsioonis. Katse alguses seatud hüpoteesiks oli võimalus asendada ratsioonis odrapõhk rapsipõhuga ning potentsiaalselt suurema

efektiivse kiu sisaldusega ratsiooni positiivne mõju lehmade vatsakeskkonnale, sealjuures säilitades piima toodangut ja -kvaliteeti.

Magistritöö eesmärkideks seati :

1. Kirjanduse põhjal anda ülevaade efektiivsest kiust ning selle olulisusest lüpsilehmade söötmisel.
2. Anda ülevaade piima rasvhappelisest koostisest ning rasvhapete päritolust ja tutvustada potentsiaalseid piima rasvhappelisel koostisel põhinevaid biomarkereid.
3. Võrrelda kahe efektiivse kiu allika, odrapõhu ja rapsipõhu, söötmise mõju piima toodangule, kvaliteedinäitajatele ning rasvhappelisele koostisele sarnase keemilise koostisega söödaratsioonide korral.
4. Kirjeldada lüpsilehmade vatsakeskkonda ning ainevahetust kasutades piima rasvhappelisel koostisel põhinevaid biomarkereid.
5. Selgitada võimalust hinnata kiudaine seeduvust roojast Eesti farmitingimustes.

TÄNUAVALDUSED

Suur tänu Artiston OÜ juhatusele, tänu kellele antud katse korraldamine tootmistingimustes võimalikuks osutus, ning Muuga PM OÜ personalile nende mõistva suhtumise ja abivalmiduse eest.

Täna SA EMÜ Joosep Tootsi Fondi ja Baltic Agro AS antud magistritöö stipendiumiga tunnustamise eest.

Suurim tänu minu magistritöö juhendajatele Tiia Arikole ja Meelis Otsale, ning Eesti Maaülikooli veterinaariameditsiini ja loomakasvatuse instituudi loomageneetika ja tõuaretuse osakonna dotsent Tanel Kaartile, kelle abil sai teostatud statistiline analüüs.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1. Taimeraku kestaained

Kiud on taimsete söötade koostisosa, mis koosneb põhiliselt ligniinist e. puitainest ja taime rakukesta polüsahhariididest (tselluloosist ning hemitselluloosist). Tselluloos koosneb glükoosi jääkidest, mis on omavahel ühenduses β 1-4 glükosiidsidemetega, hemitselluloos peamiselt ksüloosi molekulidest, mis on omavahel seotud β 1-4 glükosiidsidemetega ja pektiin on heterogeenne molekul, mis on α 1-4 sidemetega seotud galakturoonhappega (Whistler ja Smart 1953). Toorkiud ei lõhustu veise seedeensüümide toimel, vaid seda teevad veise mahukas eesmaos (vatsas) elavad mikroorganismid. Mikroobid toodavad tsellulolüütilisi ensüüme nagu endo- ja ekso- 1,4- β -glükanaasid mis suudavad lagundada tselluloosi β 1-4 glükosiidsidemeid (Pérez jt 2002). Hemitselluloosi ksüloosi lagundamiseks on lisaks endo- ja ekso- β -1,4-ksülanaasile vaja ka lisaensüüme.

Kiudu võib nimetada negatiivseks toitaineks, sest mida suurem on sööda kiusisaldus, seda madalam on tema toiteväärtus. Söötade kiusisaldus on tihedalt seotud taime vanusega. Nooremas taimestikis on kiudaineid vähe, ning sellegi koostises on taimeraku kestaainetest ülekaalus tselluloos, mis on mikroorganismidega sümbioosis elavate mäletsejaliste poolt hästi seeditav. Taimestiku vananedes rakukestad puituvad ja tõuseb praktiliselt seedumatu taimeraku koostiskomponendi ligniini sisaldus. Rohkesti on kiudaineid põhus ning heinas (toorkiudud vastavalt ca 40 % ja 25-35 %). Vähem on kiudaineid teraviljades (toorkiudud 2-12 %), kartulis ning juurviljades on aga kiudainete sisaldus väga madal (toorkiudud alla 2%). (Oll 1994)

1.1.1. Weende süsteem

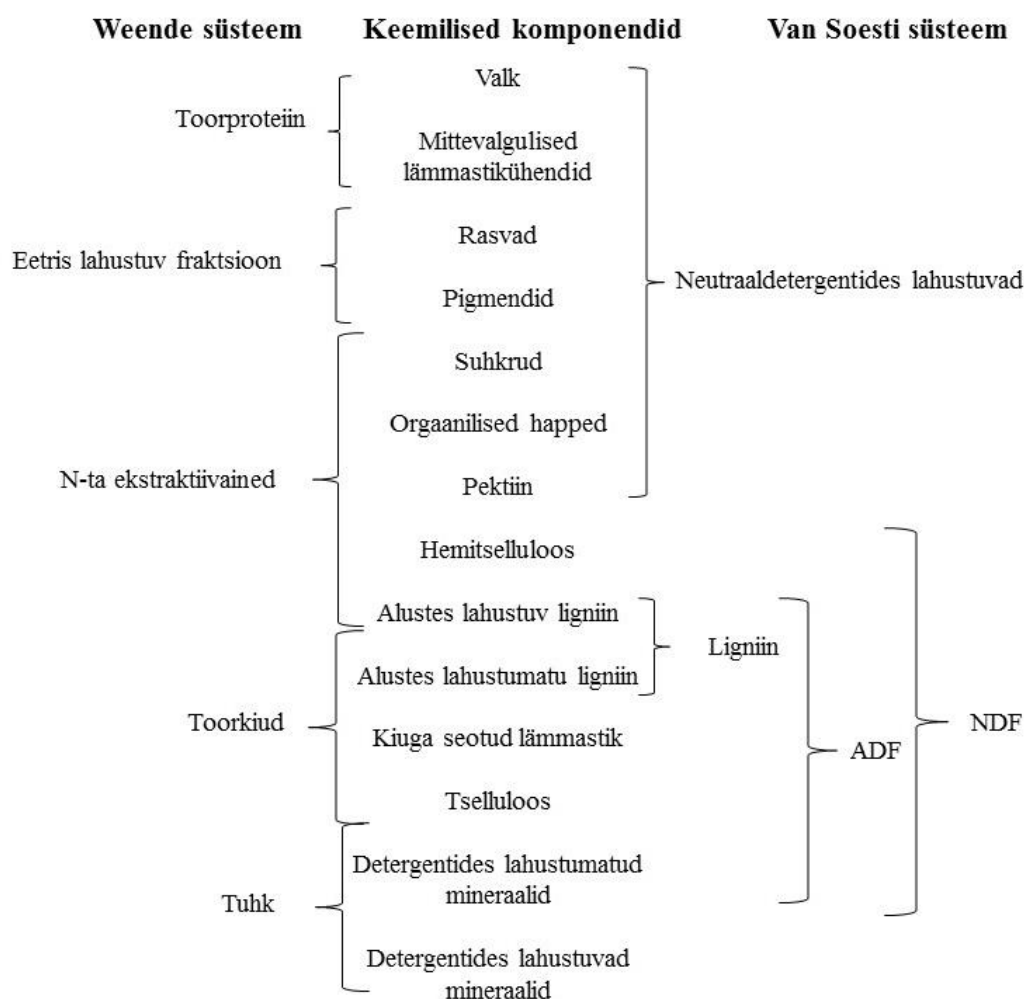
Algselt määratleti toorkiuks aineid, mis ei seedu loomade mao- ja peesoole ensüümide toimel. Hiljem selgus, et toorkiud ei ole täies ulatuses seedumatu (Tölp 1987). 1860-ndatel aastatel töötasid Henneberg ja Stohmann Saksamaal Weende katsejaamas välja söötade analüüsimeetodi, mis jagas süsivesikud kaheks – toorkiuks (ehk raskesti seeduvateks

süsivesikuks) ja lämmastikuvabadeks ekstraktiivaineteks (ehk kergesti seeduvateks süsivesikuteks). Hilisematest katsetest selgus, et rakuseinte koostist iseloomustab Weende analüüsimeetod ebapiisavalt - ligikaudu 80% hemitselluloosist, 50-90% ligniinist ja 20-50% tselluloosist ei ole analüüsimeetodiga eraldatav (joonis 1) (Van Soest ja McQueen 1973).

1.1.2. Detergentmeetod

Kaasaaegsem taime rakukesta ainete analüüsimise meetod on Beltsville'i Rahvuslikus Katsejaamas USA-s kuuekümnendatel aastatel Peter J. Van Soesti poolt välja töötatud detergentmeetod. Söötade paremaks iseloomustamiseks jaotatakse Van Soesti meetodil sööda kuivaine rakusisuks (detergentlahuses lahustuv osa) ja rakukesta aineteks. Rakukesta ained, mis vastavas detergentlahustes ei lahustu jagatakse omakorda kaheks: neutraalkiuks (*neutral-detergent fibre*, **NDF**) ja happekiuks (*acid-detergent fibre*, **ADF**). Varases arengufaasis moodustab rakusisu 2/3 sööda kuivainest, millest suurem osa on tähtlik. Rakusisu osakaal maisiteradel on 90%, lutsernil 60% ning kõrrelistel heintaimedel 25-35% kuivainest. Rakusisu seedivad mäletsejad kiiresti ja täielikult (Understander jt, 1994). NDF on taimeraku seinainete fraktsioon, mis sisaldab peamiselt hemitselluloosi, tselluloosi ja ligniini. NDF fraktsioon täidab vatsa ja seedub aeglaselt (Tölp 1987). Mida madalam on söödas NDFi sisaldus, seda rohkem suudavad loomad anud sööta süüa. ADFi koostisosadeks on tselluloos ning ligniin (Vadi jt 2003). NDFi loetakse efektiivse kiu mõõduks, kuna see korreleerub tugevalt söömusega, kuid ADFi seostatakse sööda seaduvusega (Tölp 1987). Mida vähem on söödas ADFi, seda suurem on looma võime seda sööta seedida (Vadi jt 2003).

Kuigi ADF ning NDF annavad meile täpsema informatsiooni sööda keemilisest koostisest, on Eestis senini juurdunud toorkiu analüüsimine ning selle kasutamine igapäevapraktikas. Ka antud magistriöös on tavapraktikaga seostamiseks söötade analüüsimisel ning ratsioonide koostamisel kasutusel toorkiud.



Joonis 1. Weende ja Van Soesti analüüsiskeemi võrdlus (kohandatud verisoon Fisheri jt 1995)

1.2. Efektiivne kiud ratsioonis ja selle allikad

Efektiivne kiud on mõiste kirjeldamaks füüsilise kiu osakaalu söödas (Alles 1997). Kui NDF iseloomustab keemilist kiudainete sisaldust söödas, siis efektiivset kiudu ehk peNDFi (*physically effective neutral detergent fiber*) defineeritakse kui fraktsiooni, mis otseselt mõjutab mäletsemist, sülje teket ning vatsa kiu mati moodustumist (Mertens 1986; Mertens 1992; Sudweeks 1981) ja säilitab seeläbi normaalse vatsa funktsioneerimise. Efektiivse kiu mõiste alla ühendatakse nii keemiline kui kiu osakeste füüsiline suurus söödas (Zebeli jt 2012), mis on omavahel seotud ning mõjutavad söömust. Efektiivse kui all hinnatakse NDFi

sisaldust ning söömusega seotud faktoreid, mille väärtus jääb vahemikku 0 kuni 1 (kus 1 tähendab 100% mõju mäletsemise aktiivsusele). Seda kui palju efektiivset kiudu söödas olema peab, sõltub sööda tärglise allikast. Söötmisel on oluline leida tasakaal efektiivse kiu ning kiiresti lõhustuvate süsivesikute vahel, et vältida vatsa metabolismi häireid (Zabeli jt 2011). Samas ei ole määratud kindlaks ühest optimaalset söödaosakeste suurust. Selle määramine on keeruline kuna osakeste suurusel on antagonistlik omadus: söötes pika osakese pikkusega söötasid tõuseb söödas efektiivse kiu osakaal, mäletsemine suureneb, paraneb vasta puhverdusvõime ning väheneb sub-kliinise vatsaatsidoosi risk, kuid samas vähenevad vatsa läbilaskevõime ning söömus ja toitainete kättesaadavus (Tafaj jt 2007).

1.2.1. Efektiivse kiu allikad

Põhk on teraviljakasvatuse kõrvalsaadus, mille saagikus on olenevalt sordist ja kasvutingimustest 50-75%. Suurema osa põhust moodustavad teravilja taimevarred, lehtede ning teradest puhaste viljapeade osatähtsus on väike. (Oll, 1994) Aastatepikkuse sordiaretusega on teraviljakasvatajad oluliselt vähendanud teravilja jäägi ehk põhu osa. Teravilja vars on muutunud lühemaks ning tugevamaks, mistõttu on põhu toodang vähenenud ja suurenenud on selle kogumise vajadus. Piimalehmade söödaratsioonides kasutatakse efektiivse kiu allikana peamiselt odrapõhku (joonis 2), mida soovitatakse naturaalkaalus kõrgetoodanguliste lüpsilehmade ratsiooni lisada 0,23-0,91 kg ning kinnislehmadele 2,7-4,5 kg või kuni 30% ratsiooni kuivainest (Holin 2006). Seevastu Eestis populaarseima õlikultuuri kõrvalsaadust rapsipõhku kasutatakse seni veel vähe, kuid siiski aina enam nii allapanu kui söödamaterjalina. Hiljuti Hiinas tehtud uurimuses leiti, et parima tulemuse ja väikseima sööda sorteerimise tagas täisratsioonilise segasööda koostisesse kuuluv rapsipõhk, kui seda lisati ratsiooni 7,5 % kuivaine kogumassist (Liu, Li 2016). Uurimustööd on näidanud, et teisejärgulisi põllumajanduse kõrvalsaaduseid, sealhulgas rapsipõhku, on võimalik kasutada neid sileerides, mis muudab nende koredat tekstuuri, lõhna ja maitset (Nishino, Hattori 2007). Kanada söötmisspetsialistidel on kogemusi nii rapsipõhu kui rapsisiloga ja viimase kvaliteet jääb nende sõnul sarnaseks madala kuni keskmise kvaliteediga kuivsiloga. Nende sõnul on rapsisilo tegemise võti täpse kuivainega massi sileerimine, mis peab jääma kindlasti vahemikku 55-60 % (Thomas 2009).



Joonis 2. Odrapõhk (vasakul) ja rapsipõhk (paremal)

Tabel 1. Rapsipõhu ja odrapõhu keskmised keemilised koostised (*Allikas:* <http://feedipedia.org/>)

	Rapsipõhk	Odrapõhk
Kuivaine, %	91,1	90,9
%, kuivaines:		
Toorproteiin	5,8	3,8
Toorkiud	48,2	40,5
NDF	77	80,5
ADF	62,3	48,3
Ligniin	10,8	6
Tuhk	8,7	7,5
Energia	18,4	18,2
Mineraalained g/kg kuivaines:		
Kaltsium	9,8	4,6
Fosfor	0,9	1
Kaalium		14,4
Väävel		0,9
Magneesium	2,6	1,2
Mineraalained mg/kg kuivaines:		
Mangaan	30	28
Tsink	9	15
Vask	3	10
Raud	61	177
ME, MJ/kg kuivaines	5,4	6,5

1.2.2. Veise vats

Veiste, kui mäletsejaliste, magu koosneb neljast osast – vatsast, võrkmikust, kiidekast ja libedikust. Neist kõige mahukam on vats, mis moodustab kogu veise maost 3/4 (Church 1976; Hofmann 1988). Vatsa mahutavus on 150-200 liitrit (Jaakma 2006) ja selles elavad sümbioosis veisega vatsamikroorganismid. Tänu vatsamikroobide võimele lõhustada beeta tüüpi glükosiidsidemeid (Whistler ja Smart 1953) suudavad veised tarbida suure kiudainete sisaldusega söötasid nagu rohusilo ja põhk (Oll 1994). Vatsamikroobid on keskkonnaspetsiifilised, mis tähendab, et nende populatsioon kohandub vastavalt kättesaadavatele toitainetele (Vlaeminck 2006). Erinevad mikroobid kasutavad erinevaid söödast saadavaid aineid, ning toodavad ka liigile omaseid ühendeid, mille kasutavad ära teised vatsas elavad mikroorganismid (Oll 1994). Vatsabakterid grupeeritakse nende hüdrolüüsi lähteainete järgi järgmiselt: tsellulolüütilised, hemitsellulolüütilised, amülolüütilised, pektinolüütilised, proteolüütilised, ureolüütilised, lisaks metanogeenid ning ammoniaaki tootvad bakterid (Roginski 2002).

1.2.3. Vatsakeskkond

Vats on anaeroobne keskkond, mille temperatuur on vahemikus 38-42 C°, seda nii soojust tootva fermentatsiooni kui ka looma homöotermise metabolismi tõttu. Vatsa pH jääb normaalolekus vahemikku 6,0-7,0 (Dheority 2003), kuid olles kõige enam muutuv fermentatsiooniprotsessi näitaja (Church 1976) sõltub pH kõikumine nii söötamise ajast, sagedusest kui ka sööda omadustest (Dheority 2003). Oluliseks pH mõjutajaks on fermentatsiooni käigus tekkivate hapete ning puhvri sekretsiooni tasakaal. Vatsa puhverduvusvõime tagatakse süljega vatsa jõudvate süsinik- ja fosfaatsoolade abiga, mis neutraliseerivad vatsas tekkivaid happeid ning võimaldavad seeläbi hoida vatsa pH 6,0-7,0 juures (Theodoru, France 2005). Sööda osakeste suurusel sõltub mäletsemise aktiivsus ning sülje eritus (Mertens 1997). Kiiresti fermenteeruvate söötade söötmisel väheneb mäletsemine ning sülje produktsioon. Selle tulemusena langeb vatsa pH madalale, väheneb kiu seeduvus ning pidurdub vatsamikroobide areng, mille tagajärjeks võib olla atsidoos e. vatsa ülehappelisus, laminiit, piimarasva depressioon ning nihkunud libediku sündroom (Owens jt 1998; Krause, Oetzel 2006; Plaizier jt 2008).

1.2.4. Lenduvad rasvhapped vatsas

Fermentatsiooni tulemusena tekivad vatsas lenduvad rasvhapped (**LRH**), süsihappegaas, metaan ja teised gaasid. Äädikhappe, propioonhappe ja võihappega saame kirjeldada suurema osa tekkivatest lenduvatest rasvhapetest. Vatsast peremeeslooma organismi imendunud äädikhape ning võihape on lipogeensed (saab kasutada rasva sünteesiks) ja propioonhape on glükogeenne (osaleb glükoneogeneesis), mistõttu on nende molaarne proportsioon eriti oluline toitumuslikust seisukohast. (Bhagwat jt 2012)

LRH kogus ja omavaheline suhe sõltub söödaratsioonist (Sutton jt 2003). Tavapäraseks peetakse järgnevat lenduvate rasvhapete omavahelist suhet: äädikhape 60-65%, propioonhape 20% ning võihape 15%. Söötes suure kiudaine sisaldusega söödaratsiooni väheneb lenduvate rasvhapete kogusumma, kuid suureneb äädikhappe osakaal (kuni 70 %ni). Proteiinirikaste söötade söötmisel suureneb võihappe osakaal kuni 20% (LRH kogumassist) (Oll, 1994).

LRH kontsentratsioon ning sellest mõjutatud vatsa pH varieerub päeva jooksul ning on suures korrelatsioonis söömusega (Dado ja Alles 1994). Viimast on püütud kasutada hindamaks nii vatsas tekkinud LRH kogusummat (Loncke jt 2009) kui ka erinevate LRH molaarset proportsiooni vatsas (Morvay jt 2011, Noziere jt, 2011). Kõige rohkem tekib vatsas lenduvaid rasvhappeid tärklikerikaste ning kergesti fermenteeruvate söötade söötmisel kui mikroobid ei jõua tekkinud rasvhappeid ära kasutada ning see omakorda langetab vatsa pHd (Dado ja Allen 1994). Olukord, kus vatsa pH püsib madal, on vatsa mikroobidele ebasobiv keskkond mistõttu nad surevad ja seetõttu langeb orgaanilise aine seeduvuse ning LRH kogusisaldus vatsas (Calsamiglia jt 2002, 2008).

1.3. Piimarasv

Piim sisaldab keskmiselt 87% vett, 4,6% laktoosi, 3,4% valku, 4,2% rasva, 0,8% mineraale ja 0,1% vitamiine (Lindmark ja Månsson 2003). Majanduslikult on piima rasv kõige väärtuslikum ja samas ka kõige varieeruvam mäletsejaliste piima komponent. Piima

rasvasisaldust mõjutavad nii tõug kui ka loomade aretusväärtus, söödaratsioon, laktatsioonistaadium, aastaaeg, keskkonna temperatuur ja kehakonditsioon (MacGuire ja Bauman 2003). Piimarasv koosneb lipiididest (osakaal piimarasvas on umbes 98%; tabel 2), lipiidide derivaatidest ning lipiidide satelliitainetest (vitamiinid A, D, E, K ning steroidid) (Taylor ja McGibbon 2003). Lehmapiima rasvasisaldus jääb enamjaolt vahemikku 3,5-4,5%, kuid esineb ka suurtes piirides (1-8%) kõikumisi (MacGuire ja Bauman 2003)

Tabel. 2. Piimarasva koostis (Jensen ja Newburg 1995)

Koostisosa	% lipiidide kogumassist
Triatsüülglütserool	95,8
1,2-diatsüülglütserool	2,25
Fosfolipiidid	1,11
Kolesterool	0,46

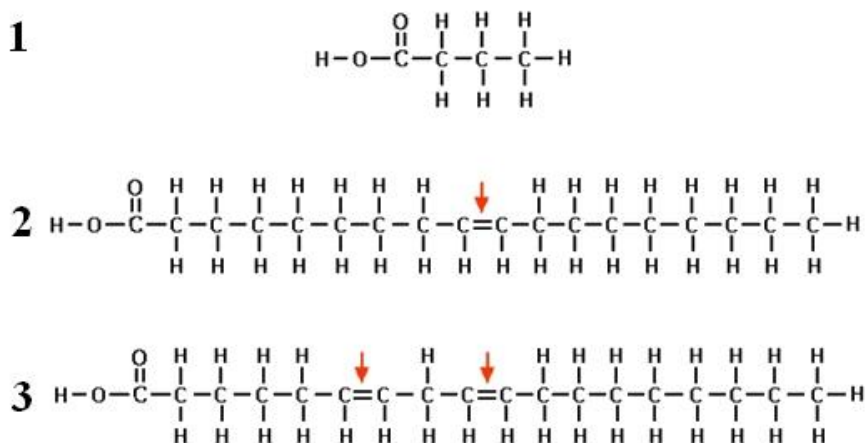
1.3.1. Rasvhapete üldiseloostus

Veiste piimarasv on üks keerukama ülesehitusega looduslikult esinevatest rasvadest kuna seal on rohkelt erinevaid rasvhappeid. Kromatograafilist ja spektroskoopilist tehnikat kasutades on teadlased identifitseerinud üle 400 piima rasvhappe (Taylor ja MacGibbon 2003). Enamikku neist on väga väikestes kogustes – vaid 15-16 rasvhapet esineb üksikult piimarasvas rohkem kui 1% kogu rasvhapetest. Rasvhappe pikkus sõltub seda moodustavate süsinikuaatomite arvust. Piimarasv koosneb 55-70% pika- (C16+) ning 30-45% lühikese- (C4-C8) ja keskmise (C10-C14) ahela pikkusega rasvhapetest (McGuire ja Bauman 2003; Bauman, Griinari 2003). Mäletsejaliste piima rasv on unikaalne suure lühikese süsinikahelaga rasvhapete osakaalu poolest. Lühikese ning keskmise ahelapikkusega rasvhapped viivad triglütseriidide sulamispunkti madalamale ja aitavad hoida piimarasva kehatemperatuuril vedelal kujul (McGuire ja Bauman 2003). Rasvhapete osakaalu piimarasvas mõjutavad erinevad faktorid nagu söödaratsiooni koostis, laktatsiooni faas ja geneetika (Taylor ja MacGibbon 2003, Meier jt 2013).

1.3.2. Küllastunud ja küllastumata rasvhapped

Küllastunud rasvhapete süsinikahelas on süsinike vahel üksiksidemed. Küllastunud rasvhapped moodustavad 65-70% kõigist piima rasvhapetest (Taylor ja MacGibbon 2003). Kõige suurema osakaaluga küllastunud rasvhape on palmitihape (C16:0) mis moodustab keskmiselt 25-30% kõigist rasvhapetest. Müristhape (C14:0) ja stearhape (C18:0) moodustavad mõlemad 10-12%, lühikese süsiniku ahelaga rasvhapetest võihappe (C4:0) ja kaproonhappe (C6:0) kogus on keskmiselt vastavalt 3,7 ja 2,4% (Taylor ja MacGibbon 2003).

Rasvhapped võivad süsiniku aatomite vahel sisaldada ühte või rohkemat kaksiksidet. Kui rasvhappes esineb üks kaksikside on tegemist monoküllastumata rasvhappega (*monounsaturated fatty acid* – **MUFA**), kahe ja enama kaksiksidemega rasvhapet nimetatakse polüküllastumata rasvhappeks (*polyunsaturated fatty acid* – **PUFA**). Süsinikaatomite paari, mille vahel on kaksikside saab küllastada lisades neile vesinikuaatomid, mis muudavad kaksiksideme üksiksidemeks, sellise ahelaga rasvhapped on küllastunud rasvhapped (joonis 3).



Küllastumata rasvhapetel on võimalikud *cis*- ja *trans*- konfiguratsioonid (joonis 4) *Cis*-konfiguratsiooni puhul on kaksiksidemega ühendatud süsinike küljes olevad vesinikud ühel pool ahelat. *Cis*-konfiguratsioon põhjustab ahela keerdumist ning vähendab sulamistemperatuuri. *Trans*-konfiguratsiooni (*trans*- ladina keeles „risti“) puhul asuvad kaksiksidemega ühendatud süsinike küljes olevad vesinikud ahela suhtes erineval pool (Clark 2009). Rasvhappel, milles esineb *trans*-side on kõrgem sulamistemperatuur kui sama pikkusega *cis*-sidemega rasvhappel (Gunstone jt 1994).

Cis- ja *trans*-sidemete märkimisel kasutatakse lühendeid C18:1,*c*9 ja C18:1,*t*9, mis tähendavad, et rasvhappe C18:1 ahelas on üheksanda ja kümnenenda süsiniku vahel *cis*-isomeeria kaksikside, sama loogika kehtib ka *trans*-isomeeria korral.



Joonis 4. *cis*- ja *trans*-kaksikside süsinikahelas (Allikas: <https://et.wikipedia.org/>)

1.3.3. Rasvhapete päritolu

Veiste piimas olevad rasvhapped pärinevad kahest allikast:

1. Piimanäärmes *de novo* sünteesitud rasvhapped (C4 – C16)
2. Vereringest pärinevad rasvhapped (C16 – C24)

De novo sünteesi käigus piimanäärmes toodetakse rasvhappeid süsinikahela pikkusega 4 kuni 16 süsinikku ja need moodustavad molaarselt umbes 60% ning massiliselt 45% kõigist rasvhapetest. 16 süsinikuaatomist koosnevad rasvhapped sünteesitakse nii *de novo* kui võetakse ka valmiskujul vereringest. Rasvhapped, millel on 18 ja enam süsinikuaatomit võetakse valmiskujul verest, kuhu nad jõuavad kas otse söödast, vabanevad lehma keharasvast või sünteesitakse vatsamikroobide poolt (McGuire ja Bauman, 2003)

Rasvhapete *de novo* sünteesiks piimanäärmes kasutatakse peamiselt äädikhapet ning vähemal määral võihapet, mis tekivad söödas leiduvate süsivesikute bakteriaalsel fermenteerumisel vatsas. Tekkinud äädikhape ja võihape imenduvad läbi vatsa seina, jõuavad verre ning sealt edasi piimanäärmesse. Vatsaseinast imendumisel muutub võihape β -hüdoksüvõihappeks, ning jõuab sellisena ka vereringesse (McGuire ja Bauman 2003).

Piimanäärmes aktiveeritakse äädikhape ja β -hüdoksüvõihape koensüüm-A (CoA) derivaatideks, vastavalt atsetüül-CoA ning β -hüdoksübutüül-CoAks, et nad saaksid sellistena osaleda järgnevates keemilistes protsessides (McGuire ja Bauman 2003).

Atsetüül-CoA karboksüleerimine malonüül-CoA-ks, mida kasutatakse süsinikahela pikendamise protsessis, on rasvhappe sünteesi esimeseks etapiks. *De novo* sünteesitud rasvhappe molekulide nelja esimese süsiniku allikana osalevad sünteesiprotsessis võrdselt atsetüül-CoA ning β -hüdoksübutüül-CoA (McGuire, Bauman 2003). β -hüdoksübutüül-CoA osaleb rasvhapete sünteesil vaid protsessi algatava parimerina ning annab hinnanguliselt 8% piima rasvhapete koostises olevast süsinikust. Rasvhapete edasine pikendamine toimub kahte süsinikku sisaldavate malonüül-CoA molekulide liitmise teel ning seeläbi tekivad paarisarvulise ning sirge süsinikahelaga rasvhapped pikkusega 4-16 süsiniku aatomit. Praimeriks võib olla ka propioonhapest pärit propionüül-CoA, mis on kolme süsinikuaatomiga ning ahela edasisel pikendamisel tekivad paaritu arvulise süsinikahelaga rasvhapped. (Taylor ja MacGibbon, 2003)

Pika süsinikuahleaga rasvhapped pärinevad nii verest, kuhu nad satuvad otse söödast, veise keharasvadest või sünteesitakse vatsamikroobide poolt (McGuire ja Bauman 2003). Piimalehmade söödas on peamiselt PUFA-d nagu C18:2,c9,c12 ja C18:3,c9,c12,c15, mille vatsamikroobid muudavad biohüdrogenisatsiooni käigus C18:0 (Bovenhuis jt 2013). Peamised piimaveise rasvkoest tulevad rasvhapped on C16:0, C18:0 ning C18:1,c9 (Chilliard jt 2000). Vatsamikroobid tootavad hargnemata paaritu arvulisi ja paaris- või paaritu arvulisi hargnenevad ahalega rasvhappeid (Vlaeminck jt 2006). Kõiki neid kolme rasvhapete allikaid mõjutab väga tugevalt söötmine (Chilliard jt 2000; Taylor ja MacGibbon 2003).

1.3.4. Ensüüm $\Delta 9$ -desaturaas

Piima jõudmiseks peab piimanäärmes sünteesitud triglütseriid olema lehma kehatemperatuuril vedel, ehk sulamistemperatuur ei tohiks olla kõrgem kui 39-40 °C (Gama jt 2008). Ensüüm $\Delta 9$ -desaturaasi mõjul on võimalik piimarasva sulamistemperatuuri vähendada (Shingfield ja Griinari 2007). See saavutatakse erineva pikkuse ja küllastatuse astmega süsinikahelate sünteesi ning liitmisega triglütseriidide koostisesse (McGuire, Bauman 2003).

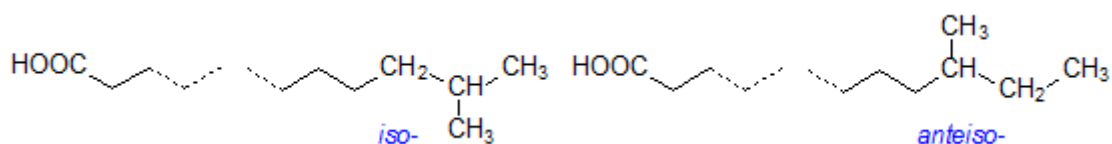
Ensüüm $\Delta 9$ -desaturaas esineb veiste rasvkoes ning piimanäärmetes. Ensüüm lisab küllastunud või monoküllastumata rasvhapetesse 9. ja 10. süsinikuaatomi vahele *cis* kaksiksideme (Palmiquist jt 2005) muutes sellega rasva sulamistemperatuuri madalamaks. $\Delta 9$ -desaturaasi toimel muutub müristhape (C14:0) müristoolhappeks (C14:1), palmithape (C16:0) palmitolehappeks (C16:1) ning stearhape (C18:0) olehappeks (C18:1,c9) (McGuire, Bauman 2003).

$\Delta 9$ -desaturaas osaleb ka paaritu arvuliste süsinikahelatega rasvhapete C15:0 ja C17:0 desaturatsiooni protsessides ning teeb neist vastavalt – C15:1,c9 ning C17:1,c9 (Vlaeminck 2006).

1.3.5. Hargnenud- ja paaritu arvulise süsinikahelaga rasvhapped

Hargnenud- ja pikad paaritu arvulise (C15, C17) süsinikahelaga rasvhapped on valdavalt sünteesitud vatsa mikroobide poolt ning piimas annavad informatsiooni vatsas toimuva fermentatsiooni kohta (Bhagwat jt 2012). Vatsamikroobid sünteesivad hargnemata ja paaritu arvulise süsinikahelaga ja paaris või paaritu arvulise hargnenud süsinikahelaga rasvhappeid (*odd- and branched chain fatty acids* – **OBCFA**) (French jt 2012).

Hargnenud ahelaga rasvhappel on *iso*-metüül ahel liitunud eelviimase süsinikuga, kuid *anteiso*-metüül ahel liitub tagantpoolt loetuna kolmanda süsiniku külge (joonis 5) Iso-rasvhappel saab olla hargneud ahelaks vaid metüülahel, sest etüülahelaga *iso*-rasvhape on ühe süsiniku võrra pikem *anteiso*-rasvhape. Teaduslikus nomenklatuuris märgitakse ära hargnenud ahela süsinike koguarv. (Christie 2012) See tähendab, et *iso*C15:0 ahel on 14 süsiniku pikkune, millele on liitunud kolmeteistkümnenda süsiniku külge metüülahel.



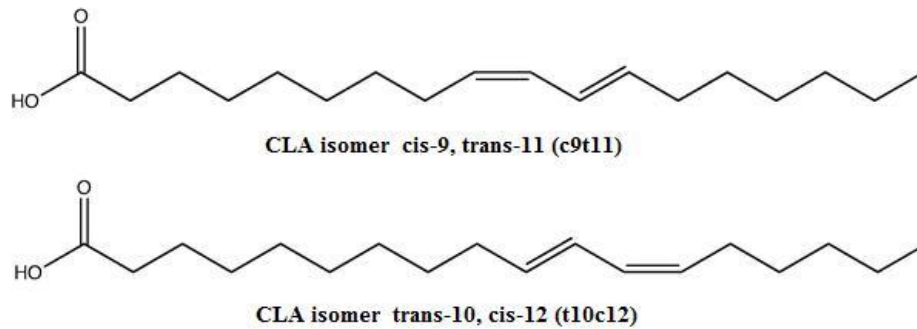
Joonis 5. *Iso-* ja *anteiso* rasvhape (Allikas :Christie 2012)

Erinevate mikroobide poolt sünteesitud rasvhapped on sarnased kuid nende profiil on erinev, mistõttu on piimarasvas rohkem just antud ratsiooni korral domineerivatele mikroobidele iseloomulikud rasvhapped (Vlaeminck 2006).

1.3.6. Konjugeeritud linoolhape

Konjugeeritud linoolhape (**CLA**) on ühine nimetaja 18 süsinikust koosneva ahelaga rasvhapetele, milles on kaks kaksiksidet, mida eraldab üks üksikside (joonis 6). Tavapäraselt toodetakse veise organismis suurem osa CLAst PUFA biohüdrogenisatsiooni käigus vatsas (Hartfoot 1988) ning nende sisaldus piimas on tugevalt mõjutatud aastaajast ja ratsioonist (Parodi 1977). Peamised biohüdrogenisatsiooni algatajad on linoolhape (C18:2,c9,c12) ja α -linoleenhape (C18:3,c9,c12,c15) (Grinari ja Bauman 1999). Mäletsejalised suudavad näiteks C18:2,c9,t11 CLAd sünteesida ka C18:1,t11-st ensüüm $\Delta 9$ desaturaasi toimel (Kliem ja Shingfield 2016).

CLAd peetakse inimese tervise seisukohalt heaks rasvhappeks (O'Donnell-Megaro jt 2011), mistõttu on tema omadusi palju uuritud. Näiteks on tehtud kindlaks, et CLA takistab kantserogeene, vähendab luude hõrenemist ning veresoonte ummistumist, vähendab rasvkoe osakaalu, tugevdab immuunsüsteemi, vähendab teise tüübi diabeedi sümptomeid, noorloomadel töötab kasvuhormoonina, on osaks luude moodustumisel ning kaitseb autoimmuunsushaiguste eest (Ip jt 1994; Kritchevsky jt 2000; Pariza jt 2001; Roche jt 2002; Whigham jt 2001; Yang jt 2000).



Joonis 6. Konjugeeritud linoolhape (CLA) isomeerid Allikas: (<https://examine.com>)

1.3.7. Piimarasva depressioon

Piimarasva depressiooni (*milk fat depression* – **MFD**) kirjeldati lüpsilehmadel esimest korda juba rohkem kui sajand tagasi. MFD on häire, mida iseloomustab normaalse piimatoodangu juures madal piimarasva sisaldus (Bauman jt 2008). Järsk piima rasvasisalduse langus (kuni 50%) on põhjustatud suurest kogusest kiiresti fermenteeruvatest süsivesikutest ning suurest küllastumata rasvhapete osakaalust söödas (Bauman ja Griinari 2003). Mõnel juhul võib kaasneda ka piima laktoosi- ja valgusisalduse langus (Bauman, Griinari 2001;2003). Muutused MFD puhul toimuvad nii piimarasva koguses kui ka rasvhappelises koostises. Kuigi väheneb nii *de novo* kui ka otse vereringest tulevate rasvhapete toodang, toimub vähenemine siiski suuremalt jaolt *de novo* sünteesitud rasvhapete osakaalus (Davis ja Brown 1970). Selle tulemusena on piimarasva koostis nihkunud lühikese ja keskmise pikkusega rasvhappe ahelatelt pika ahela suunas (Davis ja Brown 1970). Lisaks on suurenenud *trans*-C18:1 rasvhapete osakaal.

Davis ja Brown (1970) jagavad söodast tingitud ja vatsafermentatsiooni mõjutavad MFD põhjused kaheks. Kõige olulisem söötmisest tingitud MFD põhjus on ratsiooni suur kiiresti fermenteeruvate süsivesikute osakaal, mille kõrval on ratsioonis vähe kiudu (*high grain/low roughage* - **HG/LR**). Samuti põhjustab MFDd suures koguses PUFAde söõtmine õlide näol (taimsed õlid või kalaõli). Samas ei ole taimsete õlide söõtmine probleemiks kui ratsioonis on normaalse vatsa töö tagamiseks piisavalt kiudu ning kuivaine söömus on kõrge (Brown jt 1962; Kalscheur jt 1997). Kalaõlide söõtmine võib põhjustada MFDd ka siis kui ratsioonis on piisavalt efektiivset kiudu (Chilliard 1987; Offer jt 1999; Ärölä jt 2002). Mõlema puhul mängivad piimarasva vähenemisel rolli ka teised söodakomponendid ning loomade

pidamisviis ja looma individuaalsed omadused (laktatsiooni staadium ning toitumushinne). (Davis ja Brown 1970).

MFD otseste põhjuste seletamiseks on mitmeid teooriad, kuid ükski neist ei ole täielikult kinnitatud. Võimalik, et MFD põhjused tulenevad mitmest koos mõjuvast tegurist (Bauman ja Griinari 2001). Esialgu arvati, et rasvasisalduse langus piimas on tingitud rasva prekursorite, äädikhappe ning võihappe, kontsentratsioonide langusest vatsas (Thomas ja Martin 1988; Emery 1988; Sutton 1989; Doreau jt 1999). Sutton jt (1988) eeldas, et kuni 80% piimarasva kontsentratsiooni varieeruvusest võib olla põhjustatud LRH molaarsest kontsentratsioonist vatsas. Hilisemad uuringud näitavad, et äädikhappe produktsioon ei ole langenud isegi olukorras, kus vatsavedelikus on äädikhappe molaarne osakaal oluliselt langenud (Sutton ja Schuller 1974). Pigem on äädikhappe proportsiooni langus seotud propioonhappe produktsiooni tõusuga (Bauman 1971). Teine teooria peab otseseks MFD põhjuseks lipiidide piiratud sünteesi piimanäärmes (Bauman ja Griinari 2001). Davis ja Brown (1970) märkasid suurenenud piima rasvhappe C18:1,t10 ja selle prekursori C18:2,t10,c12 CLA osakaalu tõusu piimarasvas MFD korral. Erinevate ratsioonide korral märgati piima rasvasisalduse vähenedes rasvhappe CLA,t9,c11 osakaalu tõusu piimarasvas (Davis ja Brown 1970; Baumgard jt 2001). Tänapäeval peetaksegi MFD peamiseks põhjuseks muutuseid vatsafermentatsioonis, kus tüüpilised biohüdrogenisatsiooni rajad vatsas on muutunud, ning tekkinud unikaalsed rasvhapped, mis päršivad piimarasva sünteesi piimanäärmes (Bauman ja Griinari 2001; 2003).

1.4. Piimarasva rasvhapped biomarkeritena

Ilma vatsa fistulita veistel on keeruline vatsakeskkonda- ja tervist hinnata, mistõttu pööratakse aina enam tähelepanu mitteinvasiivsete kaudsete biomarkerite leidmisele. Piima rasvhappelise profiili analüüs on üheks võimaluseks hinnata vatsamikroobide populatsiooni ning fermentatsiooni iseloomu (Fievez jt 2012).

1.4.1. Mikroobse proteiini biomarkerid

Piimarasva rasvhappeliste profiili on püütud kasutada veise ainevahetuse jõudva mikroobse proteiini hindamiseks. Seni tehtud erinevad uurimused aga näitavad vastakaid tulemusi. Vlaeminck jt (2005) leidsid positiivse suhte piima OBCFAde ja kaksteistsõrmiksoole diaminopimeliinhappe ning piima OBCFAde ning kaksteistsõrmiksooles leiduva puriinaluste vahel. Mõni aasta hiljem tehtud korduvuuringus ei leitud seost ei piima OBCFAde ja kaksteistsõrmiku puriinaluste vahel ega ka piimatoodangu ja kaksteistsõrmiku OBCFAde vahel (Dewhurst jt 2007). Samuti on leidnud Gadeyne jt (2011), et mikroobse lämmastiku osakaalu peensooles vaid piima OBCFAde põhjal hinnata ei saa.

1.4.2. Vatsafermentatsiooni ja mikrobioomi biomarkerid

Hargnenud- ja paarituahelalise süsinikahelaga (C15 ja C17) rasvhapped on sünteesitud vatsamikroobide poolt ning piimarasva jõudnuna annavad informatsiooni vatsas toimuva fermentatsiooni kohta (Bhagwat jt 2012). Erinevate mikroobide poolt sünteesitud rasvhapped on sarnased kuid nende profiil on erinev, mistõttu saame järeldada, et piimarasvas on rohkem just antud ratsiooni korral domineerivatele mikroobidele iseloomulikud rasvhapped (Vlaeminck 2006). See annabki võimaluse kaudselt hinnata muutuseid vatsa mikrobias keskkonnas ning fermentatsiooni iseloomu.

Vatsa tsellulolüütilised bakterid sisaldavad suhteliselt suurel hulgal paaris ja/või paarituahelise *iso*-rasvhappeid. Need kiudu seedivad bakterid lõhustavad peamiselt tselluloosi, hemitselluloosi ja pektiini äädikhappeks, võihappeks, vesinikuks ning süsihappegaasiks. Samas amülolüütilised bakterid sisaldavad vähesel määral hargnenud *iso*-ahelaga rasvhappeid, kuid enam sirge paarituahelalise ja/või *anteiso*-hargnenud ahelaga rasvhappeid. *Anteiso*-hargnenud ahelaga rasvhapped esineb rohkesti suhkrut ning pektiini fermenteerivates mikroobides. Seega suur *iso*-rasvhapete osakaal piima rasvhappelises profiilis viitab tsellulolüütiliste mikroobide rohkusele vatsas, samas suur *anteiso* C15:0 osakaal võib tähendada pektiini ja suhkrut fermenteeruvate bakterite populatsiooni tõusu (Vlaeminck jt 2006; Bessa jt 2009).

LRH profiili ja metaani emissiooni hindamisel on olulised rasvhapped *iso* C14:0 ja *iso* C15:0, mida leidub rohkesti tsellulolüütilistes ja hemitsellulolüütilistes bakterites (Vlaeminck jt 2006). Antud rasvhapete suur osakaal piimarasvas on positiivselt seotud vatsa

äädikhape sisaldusega, samas viitab suurem *iso* C14:0 ja *iso* C15:0 osakaal piimarasvas madalale vatsa propioon- ning võihappe sisaldusele. On ka leitud, et *iso* C14:0 ja *iso* C15:0 osakaalu põhjal on võimalik arvutada vatsast eralduva metaani kogust. (Fievez jt 2012)

Paarituurvulise süsinikahelaga rasvhappeid C15:0 ja C17:0 leidub suures koguses amüloolüütilistes bakterites. Nende rasvhapete suurenenud osakaalu puhul piimarasvas on võimalik järeldada väiksemalt äädikhape produktsiooni ning metaani emissiooni vatsas, kuid propioonhappe osakaal on sellisel juhul vatsas suurenenud. C15:0 osakaal piimarasvas on tugevas negatiivses seoses võihappe kogusega vatsas. *Anteiso*-C15:0 rasvhape on kasutusel hindamismudelites arvutamaks võihappe osakaalu, kuid mitte teisi LRHd ega arvutuslikku metaani.

1.4.3. Metaani emissiooni prognoosimine

Metaani emissiooni prognoosimiseks on kasutusel erinevaid valemeid, mis põhinevad nii sööda koostisel, söömusel kui ka piima rasvhappelisel koostisel. Chilliard jt. (2009) kasutas prognoosimudeli loomiseks koerasööda söömust (kg/KA päevas) ning erinevate piima rasvhapete väärtuseid (C16:0; C18:1,*t*16,*c*14; C14:1,*c*9 ja C18:2n-6). Weill jt (2009) kasutasid oma mudelis ühe väärtusena piima rasvhapete, milles oli vähem kui 16 süsiniku aatomit, kogusummat ning looma aastast piimatoodangut. Dijkstra jt (2011) kasutasid metaaniemissiooni prognoosimiseks vaid piima rasvhapetel (C18:0, C18:1,*c*11, C18:1,*t*10, C18:1,*t*11) põhinevat mudelit. Antud meetodite välja töötamisel on selgunud, et teised rasvhapped peale OBCFA näitavad suuremat potentsiaali selgitamiseks välja eeldatava metaani emissiooni. Tulevikus on mõeldav kombinatsioon OBCFAdest ning teistest rasvhapetest eeldatava metaani arvutamiseks, kuid samas muudab paljude ning spetsiifiliste rasvhapete valemisse lisamine analüüsimise keerulisemaks. Eelnevatest mainitud valemitest on tulevikus metaani produktsiooni rutiinseks prognoosimiseks suurima potentsiaaliga Weill jt (2009) meetod (Fievez jt 2012).

1.4.4. Vatsa atsidoosi biomarkerid

Vatsa atsidoos on ainevahetushäire, mis tekib kiiresti fermenteeruvate süsivesikute suure osakaaluga ratsiooni söötmisel (O'Grady jt 2008; Chiquette 2009), mille tagajärjel tõuseb

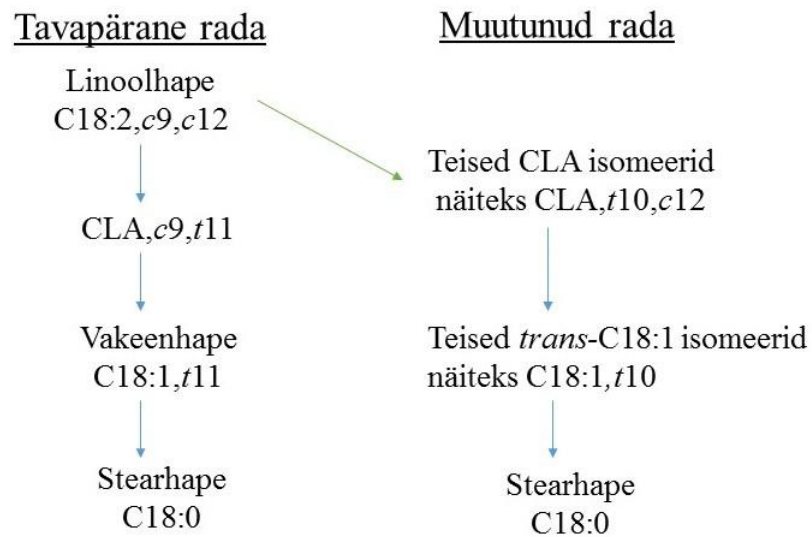
oluliselt LRH ning piimhappe osakaal vatsas. Vatsamikroobide võimetus suurt kogust LRH lõhustada, madal LRH imendumine ja vähene sülje produktsioon põhjustab vatsakeskonna pH languse (Nagaraja ja Titgemeyer 2007). Seni ei ole üheselt kokku lepitud pH piirväärtustes, mille puhul saaks rääkida ühesest vatsa atsidoosi diagnoosist. Üldjoontes jagatakse vatsa atsidoos pH taseme järgi kaheks: väliste selgete haigustunnusteta subkliiniline asidoos (SARA) ja kliiniline atsidoos. SARA korral on pH langenud vahemikku 5,6 - 5,2 (Chiquette 2009) või püsib allla 5,6 või 5,8 vastavalt 283 või 475 minutit päevas (AlZahal jt 2007). Kliinilise atsidoosi korral on vatsa pH langenud alla 5,2 (Chiquette 2009).

Sub-kliinist vatsa atsidoosi on raske diagnoosida, kuna kliinilist pilti sisuliselt ei esine või märgatakse probleeme alles nädalaid peale SARA põdemist (Garrett jt 1999), kuid piima rasvhappelise koostise põhjal on leitud kaudsed indikaatorid SARA varajaseks avastamiseks. On leitud, et vatsa pH languse korral *iso* C14:0 osakaal väheneb ning C15:0, C17:0 + C17:1,c9 kogus piimarasvas tõuseb (Fievez jt 2012). Colman jt (2010) tehtud uuringus indutseeriti vatsa atsidoos söötes lehma 5 nädala jooksul järjest suurenevas osakaalus nisu sisaldava ratsiooniga. Kuuendal nädalal kahekordistati nisul baseeruva jõusööda kogust veelgi. Vatsa pH mõõtmistulemustena avastati vatsa atsidoos 5. ja 6. nädalal, kuid mõned piima rasvhapped näitasid muutuseid juba enne, kui vatsa atsidoos avaldus. C15:0 ning C17:0 + C17:1,c9 osakaalud tõusid piimarasvas juba neljandal nädalal, *iso* C14:0 ning C18:1,t10 osakaalud muutusid 5. ja 6. nädalal. Antud uuringu põhjal järeldati, et C18:1,t10 on potentsiaalne atsidoosi indikaator ning C15:0 ja C17:0 + C17:1,c9 on SARA indikaatorid. Sarnastele tulemustele jõudsid ka Craninx jt (2007) märgates kolmandal laktatsiooninädalal diagnoositud atsioosiga lehma piimarasvas C18:1,t10 olulist tõusu. Sealjuures C17:0 tõus ning *iso* C14:0 langus piima rasvhappelises koostises esines juba teisel laktatsiooni nädalal enne atsidoosi kliiniliste sümptomite teket.

1.4.5. Piimarasva depressiooni biomarkerid

Muutunud biohüdrogenisatsiooni radade (joonis 7) käigus tekib vatsas palju CLA ja C18:1 isomeere, mis kõik ei ole piimarasva depressiooniga seotud (Harvatine jt 2009). Kuigi piimarasva sünteesi pärsib C18:2,t10,c12 on selle rasvhappe kasutamine biomarkerina komplitseeritud, sest piimarasvas esineb seda väikesel hulgal ning rutiinsel analüüsil jääb kogus alla määramispiiri. Seetõttu peetakse põhiliseks piimarasva depressiooni markeriks

piimarasvas suuremas osakaalus esinevat C18:2,*t*10,*c*12 biohüdrogenisatsiooni tagajärjel tekkinud C18:1,*t*10 (Bauman ja Griinari 2001).



Joonis 7. Linoolhappe biohüdrogenisatsiooni rajad tavapärase ning muutunud vatsafermentatsiooni korral (Griinari ja Bauman 1999 järgi)

2. MATERJAL JA METOODIKA

2.1. Katse ülesehitus ja katselehmade söötmine

Söötmisskatse lüpsilehmadega teostati ajavahemikul 1.02.2016-4.04.2016 Lääne-Virumaal Muuga Põllumajanduse osaiingu Muuga farmis. Muuga farmis on 400 lüpsilehma, keda peetakse vabapidamisel. Lehmi lüpstakse DeLaval 2x14 paralleellüpsiplatsil kaks korda päevas (hommikul kell 3.30 ning päeval kell 14.30). Lüpsilehmad on jagatud viide söötmissgruppi vastavalt laktatsioonijärgule. Lehmi söödetakse *ad libitum* kaks korda päevas kell 5.00 ja kell 13.00 täisratsioonilise segasöödaga.

Katsesse valiti lehmad kahest laktatsiooni algusjärgu söötmissgrupist, kus kummaski grupis oli 95 looma. Mõlemast grupist valiti 15 looma lähtudes katse alguses laktatsioonijärgust (60-90 päeva), keskmisest piimatoodangust (30-35 kg/päevas), piima rasva- ja valgusisaldusest (vastavalt 3,8-4,2% ja 3,3-3,5%) ning somaatiliste rakkude arvust piimas, mis kahel viimasel katse eelnenud kontroll-lüpsil ei ületanud 100 000 rakku/ml ning eelnevatel laktatsioonidel ei ületanud 200 000 rakku/ml.

Katse oli ülesehituselt *crossover*, mis koosnes kolmest järjestikusest kolme nädala pikkusest katseperioodist. Grupp A sai esimesel ja kolmandal perioodil söödaratsiooni, mis sisaldas efektiivse kiu allikana odrapõhku ja vahepealsel teisel katseperioodil söödaratsiooni, mis sisaldas efektiivse kiu allikana rapsipõhku. Grupp B lehmi söödeti vastupidi esimesel ja kolmandal perioodil rapsipõhku sisaldava söödaga ning vahepealsel perioodil odrapõhku sisaldava söödaga.

Söödaratsioonide koosamisel lähtuti farmis katsele eelnenud perioodil söödetud ratsioonist, mida kohandati lisades katseratsioonidesse vastavalt odra- (**rats-O**; tabel 3) või rapsipõhk (**rats-R**; tabel 4). Ratsioonidesse kuulusid rohusilo, maisisilo, vastavalt odra- või rapsipõhk, rukkiyahu, jõusööt (rapsikook 30%, jahvatatud oder 30%, jahvatatud nisu 25%, jahvatatud tritikale 10%, mineraalained 5%). Kolmandal katseperioodil muutus põhiratsioon (tabelid 5 ja 6) sest alustati teisest hoidlast pärineva rohusilo söötmist, mistõttu muutus ka segujõusööda kogus ning ratsiooni lisati rapsikook ning kriit. Katseratsioonide tasakaalustamisel võiet aluseks ratsiooni toorkiu sisaldus ning funktsionaalse kiu osakaal, mis püüti viia ratsioonides võimalikult sarnaseks, samas säilitades ka teiste keemiliste

näitajate optimaalsust ja sarnasust. Esimesel ja teisel perioodil oli katsegruppide ratsioonides toorkiu sisaldus täpselt 180 g/ka KA. Kolmanda perioodi põhisöötade muutuse tõttu oli katsegruppide ratsioonide toorkiu sisaldus A grupil 167 g/kg KA ning B grupil 171 g/kg KA.

Tabel 3. Efektiivse kiu allikana odrapõhku sisaldav ratsioon esimesel ja teisel katseperioodil

Sööt	Sööda KA, kg	Ratsioonis							
		PR,g	MP, g	VPB, g	ME,MJ	TR, g	TK, g	Ca, g	P, g
Rohusilo1	9,16	1329	651	211	78,8	27	2768	152	21,1
Maisisilo	2,28	192	173	-103	23,9	8	593	6,4	4,8
odrapõhk	0,41	16	22	-22	2,80	8	173	1,6	0,3
Rukis	1,72	163	208	-173	24,4	77	50	0,7	5,3
Jõusööt	10,4	1960	1140	150	134	758	758	68,9	69
Kokku	24,1	3659	2194	64	264	337	4341	230	101
1 kg-s kuivaines		152	91	3	11	14	180	9,5	4,2

KA – kuivaine

PR – toorproteiin

MP – metaboliseeruv proteiin

VPB – vatsa proteiini bilanss

ME – metaboliseeruv energia

TR – toorrasv

TK – toorkiud

Ca - kaltsium

P - fosfor

Tabel 4. Efektiivse kiu allikana rapsipõhku sisaldav ratsioon esimesel ja teisel katseperioodil

Sööt	Sööda KA, kg	Ratsioonis							
		PR,g	MP, g	VPB, g	ME,MJ	TR, g	TK, g	Ca, g	P, g
Rohusilo1	9,16	1329	651	211	78,8	27	2768	152	21,1
Maisisilo	2,28	192	173	-103	23,9	8	593	6,4	4,8
Rapsipõhk	0,29	6	13	-16	1,7	4	151	2,2	0,2
Rukis	1,72	163	208	-173	24,4	77	50	0,7	5,3
Jõusööt	10,4	1960	1140	150	134	758	758	68,9	69,2
Kokku	24,0	3650	2186	70	262	333	4320	230	101
1 kg-s kuivaines		152	91	3	11	14	180	9,6	4,2

KA – kuivaine

PR – toorproteiin

MP – metaboliseeruv proteiin

VPB – vatsa proteiini bilanss

ME – metaboliseeruv energia

TR – toorrasv

TK – toorkiud

Ca - kaltsium

P - fosfor

Tabel 5. Efektiivse kiu allikana odrapõhku sisaldav ratsioon kolmandal katseperioodil

Sööt	Sööda KA, kg	Ratsioonis							P, g
		PR,g	MP, g	VPB, g	ME,MJ	TR, g	TK, g	Ca, g	
Rohusilo3	8,36	1129	365	50	81,1	33	2174	41,8	22,6
Maisisilo	2,22	192	173	-103	23,9	8	593	6,4	4,8
Odrapõhk	1,21	46	64	-65	7,7	2	561	4,6	1
Rukis	1,72	163	208	-172	24,4	77	50	0,7	5,3
Jõusööt	9,05	1758	969	126	115,1	175	618	71,1	56,7
Rapsikook	1,39	482	176	207	18,3	150	145	10,3	14,9
Kriit	0,25	0	0	0	0	0	0	80	3,8
Kokku	24,3	3797	2227	44	271	445	4141	215	109
1 kg-s kuivaines		157	92	2	11	18	171	8,9	4,5

KA – kuivaine

PR – toorproteiin

MP – metaboliseeruv proteiin

VPB – vatsa proteiini bilanss

ME – metaboliseeruv energia

TR – toorrasv

TK – toorkiud

Ca - kaltsium

P - fosfor

Tabel 6. Efektiivse kiu allikana rapsipõhku sisaldav ratsioon kolmandal katseperioodil

Sööt	Sööda KA, kg	Ratsioonis							
		PR,g	MP, g	VPB, g	ME,MJ	TR, g	TK, g	Ca, g	P, g
Rohusilo2	4,8	648	365	29	46,6	19	1248	24	13
Rohusilo3	2	240	148	-12	18,2	6	530	18,8	5,2
Maisisilo	3,2	269	243	-144	33,6	11	832	9	6,7
Rapsipõhk	0,8	18	37	-45	4,7	12	417	6,2	0,6
Rukis	1,72	163	208	-172	24,4	77	50	0,7	5,3
Jõusööt	9,01	1777	964	126	115	174	616	70,8	56,5
Rapsikook	1	347	127	149	13,2	108	105	7,4	10,7
Kriit	0,25	0	0	0	0	0	0	80	3,8
Kokku	22,8	3462	2092	-69	255	406	3797	217	102
1 kg-s kuivaines		152	92	-3	11	18	167	9,5	4,5

KA – kuivaine

PR – toorproteiin

MP – metaboliseeruv proteiin

VPB – vatsa proteiini bilanss

ME – metaboliseeruv energia

TR – toorrasv

TK – toorkiud

Ca - kaltsium

P - fosfor

2.2. Söödaproovide kogumine ja analüüs

Söödaproovid koguti enne katse algust kõikidest ratsiooni koostises olevatest söötadest (tabel 7). Enne kolmanda katseperioodi algust võeti söödaproovid kasutusele võetavast rohusilost. Söödaproovide kogumisel jälgiti kõikide söötade puhul, et analüüsimisele saadetak koondproov iseloomustaks võimalikult täpselt kogu söödapartiid. Peale söödaproovi võtmist toimetati proovid samal päeval Eesti Maaülikooli veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituudi söötmisosakonna sööda ja ainevahetuse uurimise laboratooriumisse, kus söödaproovid analüüsiti üldtunnustatud meetodikate järgi. Söödaproovides määrati kuivaine sisaldus ning toorproteiini-, toortuha-, toorkiu-, toorrasva- ning arvutati lämmastikuta ekstraktiivainete osakaal sööda kuivaines. Analüüsiti ka kõikide söötade kaltsiumi ja fosfori sisaldus (g/kg). Silo fermentatsiooninäitajate analüüsiks kasutati leek-ionisatsiooni detektoriga varustatud kromatograafi Agilent 7890A täidiskolonniga (Supelco 80/120 Carbowack B-DA 2M x 1/2IN x 2MM glass).

Tabel 7. Katseperioodil kasutatud söötade keemilise analüüsi tulemused (kuivaines)

Näitajad	Odra-põhk	Rapsi-põhk	Maisi-silo	Rohu-silo 1	Rohu-silo 2	Rohu-silo 3	Oder	Tritikale	Nisu	Rukis
Kuivaine, %	87,7	82,6	22,2	23,3	37,5	24,3	86,2	85,9	86,3	88,6
Toorproteiin, %	3,8	3,8	8,3	14,6	11,9	13,5	10,3	10,5	13,8	8,7
Toortuhk, %	5,6	5,7	3,6	9,4	7,1	7,5	2,2	1,8	1,6	1,6
Toorkiud, %	46,8	42,1	27,9	26,9	24,3	26	4,2	2,4	2,7	2
Toorrasv, %	2	2	2,4	2,9	2,9	4	2,2	2,3	2,6	2,1
N-ta e-a., %	41,8	46,4	57,8	46,2	53,8	49	81,1	83	79,3	85,6
Kaltsium, g/kg	3,7	3,8	2,7	14,3	8,2	5	0,7	0,6	0,5	0,7
Fosfor, g/kg	0,6	0,8	2	2,6	2,7	2,7	4,2	3,6	3,8	2,8
Metaboliseeruv energia, MJ/kg	6,9	6,8	10,4	8,5	9,1	9,7	12,9	13,8	13,8	13,5
Metaboliseeruv proteiin, g/kg	55	54	74	71	73	76	107	106	115	106
Vatsa proteiini bilanss, g/kg	-55	-54	-43	25	-7	6	-71	-70	-49	-87
Eanool, g/kg			41	7	9	12				
Äädikhape, g/kg			24	25	10	15				
Propioonhape, g/kg			0	1	0	2				
Võihape, g/kg			0	1	0	3				
Piimhape, g/kg			79	76	63	62				
Happeid kokku			103	103	73	82				
pH			3,8	4,2	4,2	4,2				
Ammoniaak-N üld N-st, %			4,3	4,1	3,5	2,2				

2.3. Piimaproovide kogumine ja analüüs

Iga katseperioodi kahel viimasel päeval koguti katselehmade piimaproovid, mõlemal mõõtmispäeval 40 ml nii hommikusest kui õhtusest lüpsist. Piimaproove hoiti jahedas kuni analüüsimiseni.

Proovivõtmisele järgneval päeval transporditi piimaproovid Eesti Maaülikooli toorpiima kvaliteedi uurimise laborisse, kus ühe kuupäeva hommikune ja õhtune proov segati võrdselt kokku koondprooviks. Koondproovist võeti 0,75 ml piima rasvhappelise koostise määramiseks, ülejäänudproov saadeti Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS

piimaanalüüside laborisse, kus määrati piima jõudlusnäitajad (rasva, valgu, laktoosi, karbamiidi ning soomaatiliste rakkude sisaldus) automatiseeritud infrapuna-piimaanalüsaatoril (System 4000; Foss Electric, Hillerød, Taani).

Piima rasvhappeline koostise määras Eesti Maaülikooli toorpiima kvaliteedi uurimise labori keemik Sirje Kuusik. Piimarasva rasvhapete määramine toimus kolmes etapis. Esimeses etapis ekstraheeriti lipiidid, teises etapis muudeti lipiidide koostises olevad rasvhapped lenduvamateks rasvhapete metüülestriteks ning kolmandas etapis toimus saadud metüülestrite gaaskromatograafilisel meetodil määramine.

Rasva ekstraheerimiseks kasutati kohandatud Folchi (Folch jt 1957) meetodit. Kloroformi asemel kasutati diklorometaani. 0,75 ml piimale lisati 5ml diklorometaani-metanooli segu (2:1) ja loksutati intensiivselt. Lasti seista vähemalt 0,5 tundi. Lisati 1,75 ml 0,9% NaCl vesilahust ja loksutati. Proov tsentrifuugiti kihtide eraldamiseks $1500 \times g$ 10 min. Eraldati diklorometaani kiht ja aurutati solvent, mille tulemusena saadi umbes 20-40 mg rasva.

Teise etapina toimus lipiidide ümberesterdamine rasvhapete metüülestriteks, mida tehti Chouinardi (1999) kirjeldatud meetodi järgi, mis omakorda baseerub Christie (1982) välja töötatud meetodil. Esmalt lisati rasvale 1,0 ml hekzaani ning 30 µl metüülatsetaati ning segati. Seejärel lisati 45 µl 1M naatriummetoksiidi lahust ning lasti saadud segul reageerida 20 minutit, misjärel lõpetati reaktsioon 67 µl oksaalhappe lahuse (1g oksaalhapet 30 ml dietüüleetris) lisamisega. Naatriumoksalaadi sadestamiseks tsentrifuugiti lahust $5000 \times g$ 5 minutit. Heksaanis lahustunud rasvhapete metüülestrid viidi analüüsiks üle GC viaali.

Kolmanda etapina toimus rasvhapete metüülestrite gaaskromatograafiline analüüs, milleks kasutati leek-ionisatsioon-detektoriga varustatud gaaskromatograafi Agilent 6890A GC. Rasvhapete metüülestrite lahutamiseks kasutati kvarts-kapillaarkolonni vedelfaasiga CP-Sil 88 (100 m x 0,25 mm, vedelfaasi kihipaksusega 0,20 µm). Kandegaasina kasutati vesinikku. Aurustuskambri temperatuur oli 250 °C ja leek-ionisatsioon-detektori temperatuur 270 °C. Sisse süstitava proovi suurus oli 1 µl ja kontsentratsioon 15 - 30 mg/ml, joajagamise suhe 60:1. Rasvhapete metüülestrite lahutamiseks kasutati temperatuuriprogrammi: 1 min 100 °C, siis tõsteti temperatuuri kiirusega 13°C/min 180°C-ni, hoiti 40 min, tõsteti 5°C/min 225 °C-ni ja hoiti 15 min. Konstantne kandegaasi rõhk oli 20 psi. Meetodite kalibreerimiseks ja komponentide retensiooniaegade kindlaks tegemiseks kasutati teadaoleva koostise ja kontsentratsiooniga rasvhappe metüülestrite segusid. Tulemused esitati individuaalsete rasvhapete sisaldusena g/100g kogu rasvhapete kohta.

2.4. LRH ning metaani arvutamine

Vatsa LRH sisalduste leidmiseks kasutati Bhagwat jt (2012) poolt välja töötatud piimarasva rasvhappelisel profiilil baseeruvaid ruutvõrrandeid. Ruutvõrrandi eeliseks lineaarse ja ratsionaalse mudeli ees peetakse vatsa LRH ja piimarasva OBCFAde suhte paremat iseloomustamist, samas ei taga ruutvõrrandi kasutamine kolme peamise lenduva rasvhappe kogusummaks 1000 mmol/mol. Arvutusliku metaani arvutamiseks kasutati Dijkstra jt (2011) meetodit (tabel 8), kuna see baseerus vaid piima rasvhappelisel profiilil.

Tabel 8. Vatsafermentatsiooni käigus sünteesitud lenduvate rasvhapete profiili ja metaani produktsiooni leidmiseks kasutatud valemid (Bhagwat jt 2012; Dijkstra jt 2011)

Leitav	Valem
Äädikhape	$675 + (455,03 + isoC14:0) - (77,28 * C15:0) - (11273,84 * (isoC14:0 * isoC14:0)) - (42,15 * (C15:0 * C15:0)) + (1901,69 * isoC14:0 * C15:0)$
Võihape	$160 + (76,11 * isoC14:0) - (138,93 * C15:0) + (163,12 * (C17:0 + C16:1, c13 + C17:1, c9)) - (381,69 * (isoC14:0 * isoC14:0)) + (60,87 * (C15:0 * C15:0)) - (138,12 * ((C17:1, c9 + C17:1, c9) * (C17:0 + C16:1, c13 * C17:0 + C16:1, c13))) - 372,8 * (isoC14:0 * C15:0) + (334,52 * (isoC14:0 * (C17:0 + C16:1, c13 + C17:1, c9))) + (16,49 * (C15:0 * (C17:1, c9 + C17:0 + C16:1, c13)))$
Propioonhape	$121 - (76,11 * isoC14:0) + (202,26 * C15:0) + (11715,4 * (isoC14:0 * isoC14:0)) - (15,88 * (C15:0 * C15:0)) - (1585,96 * (isoC14:0 * C15:0))$
Metaan (g/kg kuivaine söömuse kohta)	$25,5 + (0,302 * C18:0) - (10,2 * C18:1, c11) - (2,5 * (C18:1, t10 + C18:1, t11))$

2.5. Roojaproovide kogumine ja seedumatu kiu osatähtsuse hindamine

Kiudaine seeduvuse hindamiseks kasutati Penn State'i Põllumajandusteaduste kolledžis välja töötatud meetodit hinnata roojast vatsas seedumata jäänud kiudu. Sõeludes rooja läbi kolmest erineva ava läbimõõduga sõelast koosneva analüsaatori (joonis 8), saab visuaalselt hinnata seedumata jäänud kiudu ja seedumata osakeste pikkust (Kononoff *s. a.*). Optimaalsel juhul jääb esimesele sõelale lüpsilehmade puhul vähem kuni 10% (poegimisjärgsel perioodil 20%) ning teisele sõelale kuni 20 % kogu seedumatust kiust (Zaaijer *jt s. a.*)

Roojaproovid koguti iga katseperioodi kahel viimasel päeval. Mõlemast katsegrupist koguti kolm koondproovi (kokku kuus sõelumist), millest igaüks sisaldas vähemalt kolme erineva lehma väljaheidet.

Üks kolmandik kogutud roojaproovist asetati ülemisele sõelale. See pesti veega läbi analüsaatori nii, et osakesed läbiksid sõela avad olenevalt nende suurusest. Seejärel asetati järgmine osa proovist ülemisele sõeladele ning korrati antud tegevust kuni kogu koondproov oli sõeltel ning esialgne vesi ning peened osakesed välja pestud. Alumise kahe sõela ummistuse tõttu tõsteti analüsaator veega täidetud ämbrisse ning keerutavate liigutustega paremale vasakule loputati kogu proov veega veelkord läbi. Seejärel tõsteti analüsaator veeämbrist välja ning sarnase paremale-vasakule keerutamise tehnika abil eemaldati üleliigne vesi sõeltelt. Kui kogu vesi oli sõeltest eemaldatud võeti sõelad lahti, et hinnata sinna jäänud seedimata massi visuaalselt.



Joonis 8. Rooja sõelumine Penn State Põllumajandusteaduste kolledžis välja töötatud meetodil

2.6. Statistiline analüüs

Magistritöös antakse ülevaade erineva funktsionaalse kiu päritoluga ratsioonide mõjust piima rasvhappelisele profiilile, pöörates tähelepanu teaduskirjanduses kirjeldatud veise ainevahetust iseloomustavatele biomarkeritele. Piimarasva depressiooni riski hinnatakse biomarkerite abil katsegruppides kolmel katseperioodil. Katsegrupi A lehmade individuaalsel ainevahetust kirjeldatakse piima rasvhappelise profiili abil detailsemalt kahel esimesel katseperioodil.

Piimaproovidest määratud rasvhapped jaotati gruppidesse vastaval nende päritolule. Ülevaade rasvhapete gruppidesse jaotumisest on toodud tabelis 9.

Tabel 9. Piima rasvhapete jaotumine grupidesse

<i>De novo</i>	<i>De novo</i> O	<i>De novo</i> E	BCFA	L-SFA	MUFA	PUFA
C5:0	C5:0	C6:0	<i>iso</i> C13:0	C18:0	C18:1, <i>t</i> 4	C18:2, <i>t</i> 9, <i>t</i> 12
C6:0	C7:0	C8:0	<i>iso</i> C14:0	C19:0	C18:1, <i>t</i> 5	C:18:2, <i>c</i> 9, <i>t</i> 13
C7:0	C9:0	C10:0	<i>iso</i> C15:0	C20:0	C18:1, <i>t</i> 6,8	C18:2, <i>t</i> 8, <i>c</i> 13
C8:0	C13:0	C10:1, <i>c</i> 9	<i>anteiso</i>	C21:0	C18:1, <i>t</i> 9	C18:2, <i>c</i> 9, <i>t</i> 12
C9:0		C12:0	C15:0	C22:0	C18:1, <i>t</i> 10	C18:1, <i>c</i> 16
C10:0		C14:0	<i>iso</i> C16:0	C23:0	C18:1, <i>t</i> 11	C18:2, <i>t</i> 9, <i>c</i> 12
C10:1, <i>c</i> 9		C14:1, <i>c</i> 9	<i>anteiso</i>	C24:0	C18:1, <i>t</i> 12	C18:2, <i>t</i> 11, <i>c</i> 15
C12:0			C17:0		C18:1, <i>t</i> 13,14	C18:2, <i>c</i> 9, <i>c</i> 12
C13:0					C18:1, <i>c</i> 6	C18:3n6
C14:0					C18:1, <i>c</i> 9	C18:3n3
C14:1, <i>c</i> 9					C18:1, <i>c</i> 11	CLA
					C18:1, <i>c</i> 12	18:2, <i>c</i> 9, <i>t</i> 11
					C18:1, <i>c</i> 13	CLA
					C18:1, <i>t</i> 16	18:2, <i>t</i> 10, <i>c</i> 12
					C18:1, <i>c</i> 15	C20:2n6
					C20:1, <i>c</i> 8,9	C20:3n6
					C20:1, <i>c</i> 11	C20:4n6
					C22:1, <i>t</i> 13	C20:4n3
					C22:1, <i>c</i> 13	C22:2n6
					C24:1, <i>c</i> 15	C20:5n3
						C24:1, <i>c</i> 15
						C22:4n6
						C22:5n6
						C22:5n3

de novo - *de novo* sünteesitud rasvhapete summa

de novo O – *de novo* sünteesitud paarituarvulise süsinikahelaga rasvhapped

de novo E – *de novo* sünteesitud paarisarvulise süsinikahelaga rasvhapped

BCFA – hargnenud süsinikahelaga rasvhapped

L-SFA – pika süsinikahelaga küllastatud rasvhapped

MUFA – monoküllastamata rasvhapped

PUFA – polüküllastamata rasvhapped

3. TULEMUSED JA ARUTELU

3.1. Efektiivse kiu allika mõju piimajõudlusele ja -kvaliteedinäitajatele

Ratsioonis oleva põhu allikas ja sellest tingitud funktsionaalse kiu erinevus ei mõjutanud katsegruppide lehmade keskmist piimatoodangut ($p > 0,05$; tabel 10), mis erines vaid 0,1 kg/päevas. Ratsioon mõjutas piima rasvasisaldust, kuid mitte -toodangut. Rasv on piima kõige suurema varieeruvusega komponent (MacGuire ja Bauman 2003), millele viitab ka suhteliselt suur standardviga mõlemas katsegrupis. Statistilist erinevust ei esinenud piima valgusisalduses ega -toodangus. Samuti oli piima karbamiidisisaldus soovituslikes piirides (150-270 mg/l) (Kärt 2001) ning katseratsioonide vahel erinevust ei olnud.

Tabel 10. Piima jõudlus- ja kvaliteedinäitajad erineva efektiivse kiu allikaga ratsioonide korral

	Rats-O		Rats-R		p-väärtus
	Keskmine	se	Keskmine	se	
Piimatoodang, kg	33,1	1,24	33,2	1,27	0,90
Rasv, %	3,79	0,10	4,01	0,11	0,04
Rasvatoodang, kg	1,23	0,04	1,30	0,05	0,09
Valk, %	3,46	0,04	3,50	0,04	0,24
Valgutoodang, kg	1,13	0,04	1,15	0,04	0,59
Som. rakud *1000/ml	45,8	5,83	41,8	5,92	0,45
Karbamiid mg/l	198	3,65	196	3,70	0,65

Rats-O – odrapõhku sisaldav söödaratsioon; Rats-R – rapsipõhku sisaldav söödaratsioon; se – standardviga

3.2. Efektiivse kiu allika mõju piima rasvhappelisele koostisele

De novo sünteesitud lühikese ahelaga rasvhapete hulgas esines ratsioonide vahel statistiline erinevus C6:0 ja C8:0 osakaalus (tabel 11), ning nende mõlema osakaal oli suurem rats-R puhul, mis viitab rasvhapete sünteesi prekursorite äädik- ja võihappe suurenunud osakaalule vatsas (Chilliard jt 2001). Seega võib arvata, et parem funktsionaalse kiu osakaal rapsipõhus tekitab äädik- ja võihapet sünteesivatele tsellulolüütilistele vatsabakteritele paremad

tingimused. Ka C16:0 osakaal oli rats-R korral piimarasvas kõrgem. Antud rasvhape võib olla toodetud nii *de novo* sünteesi käigus kui olla võetud piima ka vereringest. Samas on piima rasvhapped laktatsiooni jooksul väga muutlikud (Lynch jt 1992). Samsonova (2015) leidis enda magistritöös kinnitust varasemetele uurimustele (Kay jt, 2005; Craninx jt 2008; Gross jt 2011), et *de novo* sünteesitud rasvhapete osakaal piima rasvhappes suureneb esimese kolme kuu vältel, ning seejärel stabiliseerub või hakkab langema. Seega on üheks võimaluseks, et kõrgem C6:0, C8:0 ja C16:0 osakaal rats-R puhul on vaid laktatsioonistaadiumist sõltuv, kuid selle peaks välistama *crossover* katsemetoodika kasutamine. Nii Palmaquist (1993) kui ka Bauman ja Griinari (2003) on leidnud, et sarnasel laktatsiooniperioodil olevate sama tõugu lehmade *de novo* sünteesitud rasvhapete osakaalu peamised mõjutajad on söötmisest ning üldisest pidamistingimustest tulenevad erinevused.

Tabel 11. Piima rasvhapete osakaalud (g/100 g rasvhapetes) efektiivse kiu allikana odrapõhku ja rapsipõhku sisaldavate söötade korral

Rasvhape	Rats-O		Rats-R		p-väärtus
	Keskmine	se	Keskmine	se	
C4:0	3,334	0,054	3,386	0,054	0,311
C5:0	0,045	0,003	0,051	0,003	0,077
C6:0	2,035	0,039	2,141	0,040	0,005
C7:0	0,051	0,004	0,054	0,004	0,416
C8:0	1,274	0,028	1,342	0,028	0,010
C9:0	0,069	0,005	0,076	0,006	0,147
C10:0	3,019	0,072	3,136	0,073	0,068
C10:1,c9-C11:0	0,451	0,013	0,481	0,013	0,019
C12:0	3,645	0,083	3,744	0,085	0,192
<i>iso</i> C13:0	0,025	0,001	0,022	0,001	0,018
C12:1,t9+anteiso13:0	0,116	0,004	0,117	0,004	0,769
C13:0	0,133	0,005	0,137	0,005	0,407
C12:1,c9	0,150	0,007	0,153	0,007	0,611
<i>iso</i> C14:0	0,067	0,003	0,065	0,003	0,487
C14:0	11,323	0,152	11,434	0,154	0,414
<i>iso</i> C15:0	0,184	0,003	0,177	0,003	0,019
C14:1,t9	0,018	0,001	0,018	0,001	0,677
<i>anteiso</i> C15:0	0,448	0,007	0,448	0,007	0,969
C14:1,c9	1,156	0,057	1,152	0,058	0,915
C15:0	1,602	0,050	1,637	0,051	0,487
<i>iso</i> C16:0	0,215	0,007	0,212	0,007	0,688
C15:1,c9	0,021	0,001	0,022	0,001	0,494
C16:0	28,197	0,469	29,480	0,477	0,002
<i>iso</i> C17:0	0,341	0,009	0,319	0,009	0,022
C16:1,t9	0,036	0,001	0,030	0,001	0,001
C16:1,t11-12	0,054	0,002	0,045	0,002	0,001
C16:1,c7	0,155	0,003	0,143	0,003	0,001
<i>anteiso</i> C17:0	0,327	0,007	0,322	0,007	0,421
C16:1,c9	1,717	0,049	1,671	0,050	0,289
C16:1,c11	0,055	0,003	0,052	0,003	0,134
C17:0	0,736	0,010	0,736	0,011	0,971
C16:1,c13	0,061	0,002	0,055	0,002	0,086
<i>iso</i> C18:0	0,052	0,002	0,046	0,002	0,020
C17:1,c7	0,032	0,001	0,030	0,001	0,029
C17:1,c8	0,031	0,001	0,029	0,001	0,031
C17:1,c9	0,257	0,007	0,236	0,007	0,003
C18:0	8,364	0,179	8,525	0,182	0,358
C18:1,t4	0,037	0,001	0,035	0,002	0,154
C18:1,t5	0,021	0,001	0,019	0,001	0,114
C18:1,t6-8	0,241	0,012	0,208	0,012	0,004

C18:1,t9	0,274	0,011	0,241	0,011	0,004
C18:1,t10	0,585	0,055	0,456	0,056	0,038
C18:1,t11	0,990	0,042	0,846	0,043	0,000
C18:1,t12	0,411	0,015	0,361	0,015	0,000
C18:1,t13,14 C18:1,c6	0,773	0,031	0,703	0,031	0,021
C18:1,c9	18,253	0,337	17,403	0,343	0,004
C18:1,c11	1,611	0,046	1,471	0,046	0,001
C18:1,c12	0,538	0,015	0,497	0,015	0,003
C18:1,c13	0,143	0,005	0,127	0,006	0,002
C18:1,t16	0,437	0,011	0,409	0,011	0,006
C19:0	0,153	0,007	0,129	0,007	0,007
C18:1,c15	0,147	0,006	0,130	0,006	0,017
C18:2,t9,t12	0,018	0,002	0,015	0,002	0,285
C18:2,c9,t13	0,359	0,018	0,307	0,019	0,003
C18:2,t8,c13	0,157	0,006	0,140	0,006	0,005
C18:2,c9,t12+C18:1,c16	0,112	0,004	0,103	0,004	0,029
C18:2,t9,c12	0,035	0,002	0,028	0,002	0,000
C18:2,t11,c15	0,210	0,010	0,171	0,011	0,001
C18:2,c9,c12	1,918	0,059	1,834	0,060	0,149
C20:0	0,139	0,004	0,142	0,004	0,405
C18:3n6	0,014	0,001	0,013	0,001	0,215
C20:1,c8,9	0,117	0,003	0,116	0,003	0,680
C20:1,c11	0,057	0,002	0,053	0,002	0,037
C18:3n3	0,701	0,021	0,707	0,022	0,813
CLA18:2,c9,t11	0,519	0,024	0,433	0,025	0,000
C21:0	0,027	0,001	0,032	0,001	0,000
C20:2n6	0,033	0,001	0,032	0,001	0,409
C22:0	0,048	0,001	0,046	0,002	0,215
C20:3n6	0,070	0,002	0,066	0,002	0,126
C20:3n3	0,012	0,001	0,012	0,001	0,682
C22:1,c13	0,016	0,001	0,015	0,001	0,469
C20:4n6	0,102	0,002	0,100	0,002	0,461
C23:0	0,017	0,001	0,019	0,001	0,047
C20:4n3	0,034	0,001	0,031	0,002	0,068
C22:2n6	0,031	0,002	0,027	0,002	0,102
C20:5n3	0,056	0,001	0,055	0,001	0,433
C24:0	0,028	0,001	0,029	0,001	0,766
C24:1,c15	0,014	0,001	0,017	0,001	0,117
C22:4n6	0,015	0,001	0,014	0,001	0,565
C22:5n6	0,009	0,001	0,009	0,001	0,755
C22:5n3	0,107	0,003	0,103	0,003	0,228
C22:6n3	0,004	0,001	0,003	0,001	0,156

Rats-O – odrapõhku sisaldav söödaratsioon; Rats-R – rapsipõhku sisaldav söödaratsioon; se – standardviga

Lehma rasvkoes ning piimanäärmetes lisab ensüüm $\Delta 9$ desaturaas stearhappele (C18:0) üheksanda ja kümnenda süsiniku vahele kaksiksideme, mistõttu saab stearhapest olehape (C18:1,*c*9) (Chilliard jt 2000; Palmiquist jt 2005). Antud rasvhappe osakaalus erinevate ratsioonide korral esines statistiline erinevus - rats-O korral oli seda 100 g rasvhapetes 0,85 g võrra rohkem kui rats-R korral. C18:1,*c*9 on üks peamistest otse rasvkoest tulevatest rasvhapetest (Chilliard jt 2000), mille osakaalu suurenemine piimarasvas võib viidata negatiivsele energiabilansile ja suurenenud keharasva kasutamisele. Samas teise, osaliselt keharasvast pärineva rasvhappe C16:0 (Chilliard jt 2000), osakaal oli suurem rats-R korral, mis tekitab vastuolu. Stearhappele (C18:0) *cis*-sideme lisamine võib rats-O korral olla lehma organismi viis tagamaks piimarasva optimaalset sulamistemperatuuri vähenenud lühikeseahelaliste rasvhapete sünteesil (McGuire ja Bauman 2003). Samas on tegemist hüpoteesiga, sest antud katseratsioonide korral erinesid eelpool mainitud rasvhapete osakaalud küll statistiliselt oluliselt, kuid siiski väga vähesel määral.

Rasvhapete gruppides (tabel 12) oli oluline erinevus MUFAde ($p < 0,001$) ja PUFAde osakaaludes ($p < 0,05$), mida leidis rats-O söötmisel piimarasvas rohkem kui rats-R korral. On leitud, et PUFAde suur osakaal mõjutab rasvhapete *de novo* sünteesi (Griinari jt 1999) ning ka antud katses oli tendents väiksemale *de novo* sünteesitud rasvhapete osakaalule MUFAde ja PUFAde osakaalu suurenemisel piimarasvas. Samas ka antud rasvhapete gruppide puhul on tegemist statistilise erinevusega kuid osakaalude erinevused on suhteliselt väikesed.

Tabel 12. Piima rasvhapete gruppide keskmised väärtused (g/100 g rasvhapetes) efektiivse kiu allikana odrapõhku ja rapsipõhku sisaldavate söötade korral

	Rats-O		Rats-R		p-väärtus
	Keskmine	se	Keskmine	se	
De novo	23,351	0,334	23,902	0,339	0,073
De novo O	0,298	0,017	0,319	0,017	0,198
De novo E	23,053	0,328	23,583	0,334	0,081
BCFA	1,607	0,026	1,565	0,026	0,079
L-SFA	8,776	0,184	8,923	0,187	0,409
MUFA	24,656	0,489	23,103	0,498	0,000
PUFA	4,477	0,127	4,178	0,129	0,014

Rats-O – odrapõhuga ratsioon

Rats –R – rapsipõhuga ratsioon

de novo – de novo sünteesitud rasvhapete summa

de novo O – de novo sünteesitud paaritu arvulise süsinikahelaga rasvhapped

de novo E – de novo sünteesitud paarisarvulise süsinikahelaga rasvhapped

BCFA – hargnenud süsinikahelaga rasvhapped

L-SFA – pika süsinikahelaga küllastatud rasvhapped

MUFA – monoküllastamata rasvhapped

PUFA – polüküllastamata rasvhapped

se – standardviga

Erineva funktsionaalse kiu allikaga söötmise korral oli piimarasvades erinevus veel mitme väikese osakaaluga rasvhappe osakaalus, näiteks C16:1,*t*9, C16:1,*t*11-12, C18:1*t*9, C18:1*c*15 jne. Tänapäeva teadmiste põhjal ei ole need lehma ainevahetuse kirjeldamisel olulised. Samas tegelevad maailmas mitmed teadusgrupid piimast uute rasvhapete identifitseerimisega ning nende seostamisega lehma füsioloogiaga.

3.3. Efektiivse kiu allika mõju vatsa lenduvatele rasvhapete profiilile ja metaani emissioonile

Tsellulolüütiliste bakterite suur osakaal vatsas viitab toorkiu ning funktsionaalse kiu piisavale kogusele söödas, piisavale mäletsemisele ning sobivale vatsakeskkonna pHle. Tsellulolüütilised vatsabakterid sisaldavad suurel hulgal paaris ja/või paarituahelalisi *iso*-rasvhappeid ning käesolevas katses oli nii *iso* C13:0, *iso* C15:0, *iso* C17:0 kui ka *iso* C18:0

osakaal piimarasvas katseratsioonide korral erinev. Kõiki eelnimetatud rasvhappeid esines piimas rohkem rats-O puhul, kuigi katset planeerides võis organoleptilise analüüsi põhjal eeldada, et tsellulolüütilistele bakteritele tagab parema keskkonna just koredamat rapsipõhku sisaldav rats-R. Bhagwat jt (2012) poolt välja töötatud valemite abil prognoositud lenduvate rasvhapete osakaalud vatsas näitasid marginaalsel hulgal, kuid statistiliselt olulist võihappe osakaalu suurenemist rats-R söötmisel, millega kaasnes eelpool kirjeldatud paarisarvuliste *de novo* sünteesitud rasvhapete C6:0 ja C8:0 osakaalu suurenemine piimarasvas. Seega võiks arvata, et rats-R korral on lehmade vatsas suurem kiudu fermenteerivate bakterite elutegevus, kuid tõusnud tsellulolüütilistele mikroobidele iseloomulike *iso*-rasvhapete osakaal rats-O korral seda ei kinnitanud.

Tabel 13. Lenduvate rasvhapete osakaalud vatsavedelikus (Bhagwat 2012 järgi) ning arvutuslik metaani emissioon (Dijkstra jt 2011) efektiivse kiu allikana odrapõhku ja rapsipõhku sisaldavate söödaratsioonide korral

	Rats-O		Rats-R		p-väärtus
	Keskmine	se	Keskmine	se	
Äädikhape	616	8,3	609	8,44	0,34
Propioonhape	288	3,92	290	3,98	0,6
Võihape	171	4,02	180	4,08	0,03
LRH summa	1075	2,95	1079	3	0,19
Äädikhappe ja propioonhappe suhe	2,16	0,06	2,13	0,06	0,52
Lipogeensete ja glükokeensete LRH suhe	2,75	0,05	2,75	0,06	0,87
Metaan	22,05	0,22	22,69	0,23	0,01

Rats-O – odrapõhku sisaldav söödaratsioon; Rats-R – rapsipõhku sisaldav söödaratsioon; se – standardviga

Antud katses oli rats-O korral C17:1*cis* isomeeridega rasvhappeid piimarasvas rohkem kui rats-R söötmisel, sealhulgas oli tõusnud ka C17:1,*c9* osakaal, mis viitab tärgliserikkale ratsioonile (Vlaeminck 2006) ning vatsakeskkonna langenud pHle (Fivez jt 2012), mistõttu peetakse antud rasvhapet ka atsidoosi markeriks. Colman jt (2010) leidsid sööda abil atsidoosi indutseerides, et C17:0 ja C17:1,*c9* summa on potentsiaalne SARA indikaator, sest nende rasvhapete summa osakaalu tõus piimas oli märgatav juba enne atsidoosi tunnuste avaldumist. Craninx jt (2007) märkasid atsidoosi esinemise eel C17:0 tõusu ning *iso* C14:0

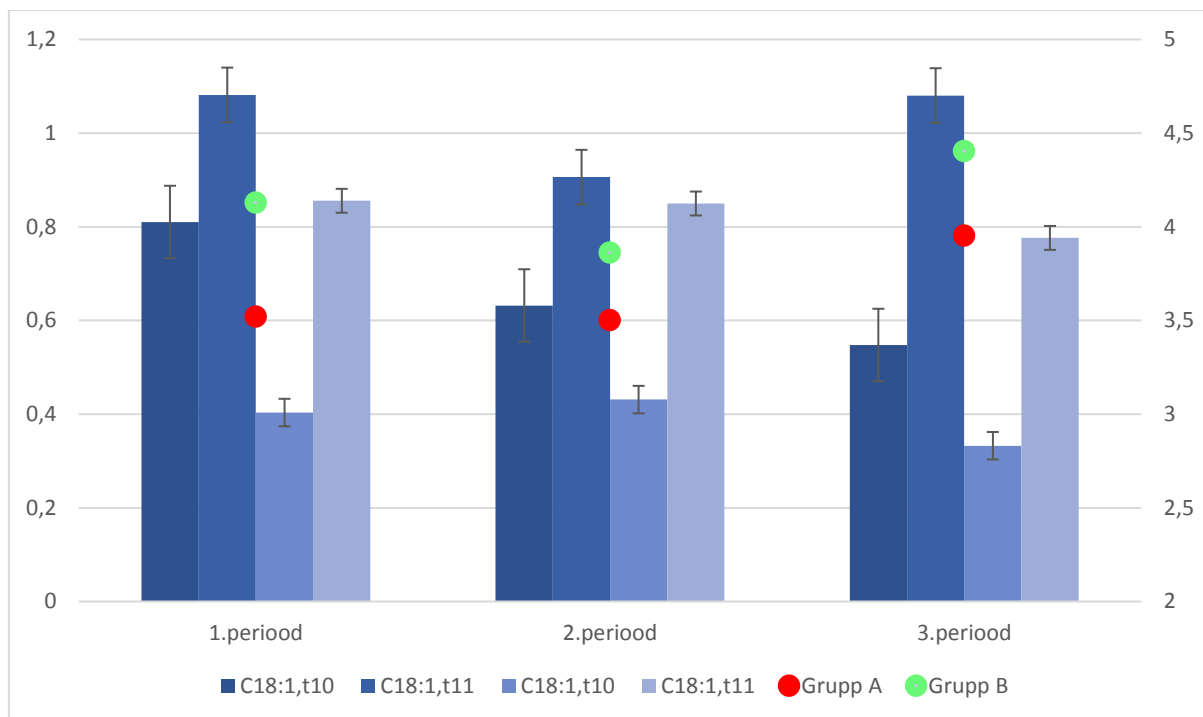
langust piima rasvhappelises koostises. Antud katses on C17:1,c9 osakaal küll rats-O puhul tõusnud kuid teiste piimarasva rasvhapete ega vatsa LRH profiil ei viita äärmuslikele muutustele vatsakeskkonnas kummagi söödaratsiooni kasutamisel.

Statistiline erinevus esines piimarasva rasvhappelise profiili põhjal prognoositud metaani emissioonis, mis oli hinnanguliselt suurem rats-R söötmisel. Metanogeenid on tsellulolüütilised bakterid ja suurenenud metaani emissioon viitab nende osakaalu tõusule vatsakeskkonnas. Samas oli eelpool kirjeldatud piimarasva *iso*-rasvhapete osakaalu põhjal hinnatud tsellulolüütiliste vatsamikroobide populatsioon suurem rats-O korral.

3.4. Piimarasva depressiooni ja SARA esinemise hindamine katsegruppides ja üksiklehmadel

Piimarasva depressiooni markeri C18:1,t10 osakaal piimarasvas oli suurem rats-O puhul, kus seda oli 100g rasvhapetes 0,129 g võrra rohkem kui rats-R söötmisel. Samuti oli rats-O korral madalam piima rasvasisaldus, mis ei olnud küll alla tavapärase normi. Piima rasvasisaldust ja seda mõjutavaid tegureid analüüsiti suure individuaalse varieeruvuse tõttu ka katsegruppides periooditi ning katsegrupi A üksiklehmadel esimesel ja teisel katseperioodil.

Katsegruppide A ja B rasvadepressiooni markerite C18:1,t10 ning C18:1,t11 võrdlusest (joonis 9) on näha, et MFD marker C18:1,t10 ei ületanud ühelgi katseperioodil kummaski grupis tavapärase linoolhappe (C18:2,c9,c12) biohüdrogenisatsiooni vaheühendi C18:1,t11 osakaalu. Samas ületas katsegrupis A nii C18:1,t10 kui C18:1,t11 osakaal vastavate rasvhapete osakaale grupis B kõikidel katseperioodidel, ning oli kõrgeim esimesel katseperioodil. Samuti kaasnes tõusnud C18:1,t10 ja C18:1,t11 osakaaludega esimesel katseperioodil grupis A ka suhteliselt madal piima rasvasisaldus. Sellest saab järeldada gruppides olevate katseloomade individuaalseid erinevusi.



Joonis 9. Kahe katsegrupi C18:1,t10 ja C18:1,t11 keskmised väärtused katseperioodidel (g/100 g rasvhapetes), ning katsegruppide keskmised piima rasvasisaldused (%)

Grupisisese individuaalsuse analüüsimiseks valiti katsegrupi A esimene (rats-O) ja teine katseperiood (rats-R) (tabel 14). Katsegrupi A viieteistkümnest lehmast esines kümnel lehmil kahe esimese katseperioodi jooksul piima rasvasisaldust alla 3,5% (MacGuire ja Bauman 2003), jäädes vahemikku 1,98 – 3,47 %. Neist neljal lehmil esines madal piima rasvasisaldus mõlema ratsiooni korral, ning kuuel loomal vaid ühe ratsiooni korral. Viimastest kahel lehmil esines piima madal rasvasisaldus esimesel perioodil rats-O korral olles lehma 3 puhul 3,09 % ning lehma 9 puhul 1,98 %. Lehma 3 piima- ning valgutoodang oli piima madala rasvasisalduse juures säilinud, samuti ei esinenud MFD markerite muutuseid piimarasvas (C18:1,t10 ei ületanud C18:1,t11 osakaalu). Lehma 9 puhul saame rääkida klassikalisest MFD juhtumist, kus piimatoodang oli säilinud (45,1 kg/päevas) kuid rasvasisaldus oli oluliselt langenud (1,98 %) ning väikesel määral oli langenud ka piima valgusisaldus (3,03%). Märkimisväärselt oli lehma 9 piimas tõusnud C18:1,t10 osakaal ületades C18:1,t11 osakaalu 0,982 g võrra. Sealjuures oli tema piimas langenud ka tsellulolüütilistele vatsamikroobidele omaste *iso* C14:0 ja *iso* C15:0 (Vlaeminck jt 2006) rasvhapete summa osakaal piimarasvas ning tõusnud SARA ühe indikaatori C17:0 ja C17:1,c9 (Colman jt 2010) osakaal, mis viitab vatsakeskkonna pH langusele,

tsellulolüütiliste mikroobide osakaalu vähenemisele ning biohüdrogenisatsiooniradade muutumisele ehk võib rääkida lehma 9 vatsakeskkonna 'haigestumisest'. Nii lehma 3 kui 9 puhul oli järgmisel perioodil (rats-R) piima rasvasisaldus tõusnud üle 3,5 %, samuti tõusis valgusisaldus, kuid päevane piimatoodang jäi sisuliselt samaks. Looma number 9 puhul vähenes ka C18:1,t10 osakaal alla C18:1,t11, ning ka teiste vatsakeskkonna markerite osakaalud olid teiste söötmisgrupi loomadega sarnasel tasemel, mis viitab vatsa normaalse keskkonna taastumisele.

Ainult rats-R puhul esines madalat piima rasvasisaldust neljal lehmäl (lehmadel nr 6, nr 7, nr 8 ja nr 15), kõigil neil oli sealjuures kõrge piimatoodang ja vaid kahel lehmäl esines madal valgutoodang (3,09 ja 3,21 %). Samas ei saa me biomarkerite abil kahtlustada neil klassikalise MFD esinemist kuna kõigil oli C18:1,t10 osakaal väiksem kui C18:1,t11.

Neljast loomast, kelle piima rasvasisaldus oli mõlema vaadeldava perioodi puhul väga madal, ei esinenud klassikalist MFD markeri C18:1,t10 osakaalu tõusu üle C18:1,t11, vaid tõusnud olid nii C18:1,t10 kui ka C18:1,t11 osakaalud. Ühel loomal (lehm 4) oli C18:1,t10 osakaal märgatavalt tõusnud, kuid see ületas vaid rats-R korral C18:1,t11 osakaalud.

Oluliselt kõrgemat C18:1,t10 osakaalu on mitmetes uurimustöodes toodud ka kui atsidoosi korral piimarasvas tõusvat rasvhapet (Craninx jt 2007; Colman jt 2010). Selliseid normaalse rasvasisaldusega, kuid kõrgeneneud C18:1,t10 osakaaluga lehma oli katsegrupi A kahel esimesel söötmisperioodil kaks, lehm number 7, kellel rats-O korral oli rasvaprotsent 3,63 ning C18:1,t10 osakaal 0,919 g/100 g rasvhapetes ning lehm number 15, kellel oli samuti esimesel katseperioodil piima rasvasisaldus 3,7 % ning C18:1,t10 osakaal 1,546 g/100 g rasvhappes. Mõlema looma puhul saame rääkida ka subkliinilise vatsa atsidoosi markerite, C17:0 ja C17:1,c9, tõusust. Kuigi antud lehmade piima rasvasisaldus ei olnud langenud alla 3,5%, võib arvata, et vatsakeskkonna muutused pärsivad nende potentsiaali toota suurema rasvasisaldusega piima. Antud katselehmadele siiski SARA diagnoosi anda ei saa. Kuna rasvhapete väärtused kõiguvad väga väikestes piirides, on raske öelda, kas tegu on loomaspetsiifilise iseärasusega või on tegemist vatsakeskkonna muutustega.

Tabel 14. Katsegrupi A lehmade piima jõudlusnäitajad ja valitud rasvhapped (g/100g rasvhappes) kahel esimesel katseperioodil

Lehm	Piima toodang kg/päevas	Piimarasv, %	Piimavalk, %	C18:1, t10	C18:1, t11	iso14+ iso15	C17:0+ C17:1, c9	Ratsioon
1	23,5	4,18	3,79	0,448	1,002	0,246	0,968	rats-O
1	24,4	4,4	3,77	0,374	0,803	0,230	1,054	rats-R
2	29,9	4,1	3,63	0,412	0,802	0,255	0,914	rats-O
2	30,1	4,29	3,68	0,426	0,731	0,220	1,012	rats-R
3	33,1	3,09	3,44	0,493	0,919	0,255	0,989	rats-O
3	33,2	3,52	3,51	0,552	0,789	0,236	0,978	rats-R
4	29,2	2,58	3,07	1,535	1,816	0,231	1,196	rats-O
4	33,7	2,28	3,09	1,82	1,68	0,240	1,079	rats-R
5	37,1	3,32	3,44	0,815	1,139	0,233	1,054	rats-O
5	37,7	3,43	3,55	0,573	0,732	0,209	1,03	rats-R
6	30	3,89	3,28	0,389	0,738	0,280	1,03	rats-O
6	32	3,43	3,55	0,335	0,637	0,238	1,07	rats-R
7	27,1	3,63	3,01	0,919	1,076	0,228	1,068	rats-O
7	28	2,9	3,09	0,4	0,791	0,236	1,058	rats-R
8	36,7	4,23	3,36	0,381	0,901	0,270	0,983	rats-O
8	38,7	3,29	3,21	0,41	0,734	0,226	1,073	rats-R
9	45,1	1,98	3,03	2,652	1,67	0,177	1,129	rats-O
9	45,7	3,57	3,33	0,792	1,215	0,232	0,971	rats-R
10	24,7	4,41	3,66	0,691	1,04	0,230	1,06	rats-O
10	27	3,62	3,59	0,788	0,934	0,215	1,064	rats-R
11	33,5	2,25	3,38	0,496	0,964	0,209	1,062	rats-O
11	35,2	3,2	3,6	0,791	1,108	0,169	1,131	rats-R
12	28,8	4,06	3,54	0,465	1,005	0,266	0,983	rats-O
12	29,7	3,67	3,53	0,424	0,882	0,261	0,968	rats-R
13	45	3,43	3,12	0,491	1,003	0,212	1,005	rats-O
13	44,5	3,44	3,36	0,598	0,729	0,201	1,101	rats-R
14	29,6	4	3,27	0,421	0,925	0,350	0,883	rats-O
14	29,6	4,04	3,44	0,356	0,805	0,306	0,888	rats-R
15	41,8	3,7	3,51	1,546	1,226	0,226	1,169	rats-O
15	41,7	3,47	3,7	0,84	1,022	0,231	1,134	rats-R

Rats-O – odrapõhku sisaldav söödaratsioon; Rats-R – rapsipõhku sisaldav söödaratsioon

Antud söötmisgrupis on loomad väga erineva ainevahetusega ning üksikute loomade vatsa tervis vajab jälgimist. Samas on vatsakeskkonna muutustele viitavaid hälbeid piima

rasvhappelises profiilis mõlema katseratsiooni korral, mistõttu ei saa väita, et konkreetne ratsioon mõjutaks vatsakeskkonda negatiivselt.

3.5. Kiudaine seeduvus

Rooja sõelumise meetodil saadud kiu seeduvuse hindamise tulemused ei vastanud meetodi välja töötajate poolt antud piirväärtustele. Kõige suurema osakese suurusega kidu oli vastavalt meetodis soovitatud kogusele varieerudes 10-15 %, mis viitab normaalsele vatsa pHle ning tsellulolüütilistele bakteritele sobivale keskkonnale, mistõttu on nad jõudnud ära kasutada suurema osa kiumaterjalist (Kononoff *s. a.*). Kõigil katseperioodidel, olenemata söödast, jäi kõige enam seedumatut massi keskmisele sõelale. Soovitusliku 20% asemel jäi kõigil katseperioodidel sellele vähemalt 60% kiust, mõningatel juhtudel ulatudes kuni 80% (joonised 10 ja 11). Olukorras, kus kahel esimesel sõelal on seedumatut kiudu soovituslikust rohkem, võib probleemiks olla madal kiu kvaliteet, ebapiisav kiumatt vatsas, kiire ratsiooni muutus, ratsiooni väike lahustuva proteiini ja/või kergesti seeduvate süsivesikute osakaal, ratsiooni liiga suur kaitstud rasva sisaldus ning ka SARA. Kui sõltel on näha seedumata jõusööta ja teravilja võib põhjuseks olla ebapiisav tervailja eeltöötlus (muljumata terad), suur jõusööda osakaal ratsioonis, lehmade sööda sorteerimine ning samuti SARA. Antud katses seedumata jõusööda jääke roojas ei täheldatud.

Antud tulemuste põhjal võib oletada, et antud meetod ei sobi Eestis tavapärase suure rohusilo osakaaluga ratsioonide puhul kiu seeduvuse hindamiseks. Meetod on välja töötatud USAs, kus piimaveiste söödaratsioonis on suurema maisisilo osakaal. Rohusilo puhul on tavaline heksli pikkus 8-10 cm kuid maisisilol 2-3 cm ning samuti on rohusilo seeduvus maisisilost halvem.



Joonis 10. Efektiivse kiu allikana rapsipõhku sisaldava ratsiooni söötmise järgse rooja sõelumise tulemused (sõelad vastavalt ava läbimõõdule suuremast väiksemani, vasakult paremale)



Joonis 11. Efektiivse kiu allikana odrapõhku sisaldava ratsiooni söötmise järgse rooja sõelumise tulemused (sõelad vastavalt ava läbimõõdule suuremast väiksemani, vasakult paremale)

KOKKUVÕTE

Antud magistritöö hüpoteesiks oli võimalus asendada ratsioonis odrapõhk rapsipõhuga ning seeläbi ka potentsiaalselt suurema efektiivse kiu sisaldusega ratsiooniga mõjutada positiivselt lehmade vatsakeskkonda, sealjuures säilitades piima toodangut ning – kvaliteedinäitajaid. Magistritöö eesmärkideks oli anda kirjanduse põhjal ülevaade efektiivsest kiust ning selle olulisusest lüpsilehmade söötmisel ja piima rasvhappelisest koostisest ning rasvhapete päritolust. Tutvustada potentsiaalseid piima rasvhappelisel koostisel põhinevaid biomarkereid, ning kirjeldada viimaste põhjal piimalehmade vatsakeskkonda ning ainevahetust. Samuti sooviti selgitada, kas Ameerikas välja töötatud seeduva kiu hindamise võimalust on võimalik kasutada ka Eesti söötade ning söödaratsioonide korral.

Magistritöö raames teostati kolme perioodiga *crossover* söötmiskatse, mille käigus söödeti Muuga PM OÜ veisefarmis kahte laktatsiooni alguse söötmisgruppi erinevat efektiivse kiu allikat, vastavalt odrapõhku või rapsipõhku sisaldava, kuid keemiliselt koostiselt sarnase ratsiooniga. Piima- ja roojaproovid koguti iga kolme nädala pikkuse katseperioodi kahel viimasel päeval. Piimaproovide jõudlus- ja kvaliteedinäitajad analüüsiti Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS laboris ning rasvhappeline koostis määrati Eesti Maaülikooli toorpiima kvaliteedi laboris. Roojaproovid sõeluti Penn State'i ülikooli poolt välja töötatud kolme sõelaga analüsaatori meetodil.

Kirjandusallikate ja uurimistulemuste põhjal tehti järgmised järeldused:

1. Söötmisel on oluline leida tasakaal sööda efektiivse kiu ning tärglase sisalduse vahel, et säilitada veiste vatsa normaalne funktsioneerimine.
2. Vatsas sünteesitud lenduvate rasvhapete kogus ning omavaheline suhe sõltub loomade söödaratsioonist ning sellest tingitud mikroobipopulatsioonist.
3. Piimarasvast on identifitseeritud üle 400 rasvhappe, millest enamikke on väga väikestes kogustes.

4. Lühikese- ning keskmise ahelapikkusega ning *cis*-konfiguratsiooniga rasvhapped alandavad triglütseriidide sulamispunkti ning aitavad seeläbi hoida piimarasva kehatemperatuuril vedelal kujul.
5. Piima rasvhappeliste profiili mõjutavad paljud faktorid, neist peamisena söödaratsiooni koostis, laktatsiooni faas ning geneetika.
6. Piima rasvhappelise profiili alusel on põ võimalik hinnata vatsas sünteesitud lenduvate rasvhapete tasakaalu ja metaani emissiooni, tuvastada piimarasva depressiooni ning subkliinilise atsidoosi riski.

Magistritöö käigus teostatud katses ei esinenud söödaratsiooni efektiivse kiu allika poolt tingitud erinevust piimatoodangus, jõudlus ega –kvaliteedinäitajates. Odrapõhku sisaldava ratsiooni söötmisel täheldati väiksemat piima rasvasisaldust, kuid mitte –toodangut. Seega jälgides toorkiu osakaalu lüpsilehmade ratsioonis, võib efektiivse kiu allikana kasutada nii odrapõhku kui rapsipõhku mõjutamata seeläbi toodangunäitajaid.

Rapsipõhku sisaldava ratsiooni korral oli piima rasvhappelises koostises suurem *de novo* sünteesitud lühikeseahelaliste rasvhapete C6:0 ja C8:0 osakaal. Samas oli rasvhappe C18:1,c9 osakaal suurem odrapõhku sisaldava ratsiooni korral. Hüpotetiliselt võis suurema C18:1,c9 osakaalu puhul olla tegemist väiksema lühikeseahelaliste rasvhapete kontsentratsiooni korral piimarasva triglütseriidide sulamistäpi mõjutamisega piimarasva sünteesil *cis* konfiguratsiooniga kaksiksideme lisamise abil.

Odrapõhku sisaldava ratsiooni korral oli piima rasvhappelises profiilis viiteid suurema tsellulolüütiliste bakterite osakaalu kohta lehmade vatsas võrreldes rapsipõhku sisaldavat ratsiooni söönud lemadega. Samas oli prognoositud metaani emissioon ning võihappe osakaal vatsavedelikus suurem just rapsipõhku sisaldava ratsiooniga söötmisel.

Ühe vatsa atsidoosi biomarkeri C17:1,c9 osakaal piimarasvas oli suurem odrapõhku sisaldava ratsiooni korral, kuid teiste piimarasva rasvhapetel põhinevate markerite ega prognoositud vatsa LRH profiil ei viita äärmuslikele muutustele vatsakeskonnas kummagi söödaratsiooni korral.

Katsegrupi A lehmade piima jõudlusnäitajad ja rasvhappeline profiil erines suurel määral. Üksikutel lehmadel esines piimarasva depressiooni ning esines viiteid subkliinilisele atsidoosi esinemisele.

USAs välja töötatud meetod seedumatu kiu osakaalu hindamiseks roojast kolme sõelaga sõelumise abil ei osutunud antud katses rohusilo sisaldavate ratsioonide korral sobivaks.

KASUTATUD KIRJANDUS

1. **Allen, M. S.** (1997). Relationship Between Fermentation Acid Production in the Rumen and the Requirement of Physically Effective Fibre. - *J. Dairy Sci.* 80, pp. 1447-1462.
2. **Alzahhal, O., Kebreab, E., France, J., McBride, B. W.** (2007). A mathematical approach to predicting biological values from ruminal Ph measurements. - *J. Dairy Sci.* 90, 3777-3785.
3. **Bauman, D. E., Davis, C. L., Bucholtz, H. F.** (1971). Propionate production in the rumen of cows fed either a control or high grain, low fibre diet. - *J. Dairy Sci.* 54:1282-87
4. **Bauman, D. E., Griinari, J. M.** (2001). Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. - *Livest. Prod. Sci.* 70:15-29.
5. **Bauman, D. E., Griinari, J. M.** (2003). Nutritional regulation of milk fat synthesis. - *Annu. Rev. Nutr.* 23, pp. 203-227.
6. **Bauman, D. E., Perfield II, J. W., Harvatine, K. J., Baumgard, L. H.** (2008). Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: Lactation and the ruminant model. - *J. Nutr.* 138, pp. 403-409.
7. **Baumgard, L. H., Sangster, J. K., Bauman, D. E.** (2001). Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing supplemental amounts of trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid (CLA). - *J. Nutr.* 131, pp. 1764-1769.
8. **Bessa, R. J. B., Maia, M. R. G., Jeronimo, E., Belo, A. T., Cabrita, A. R. J., Dewhurst, R. J., Fonseca, A. J. M.** (2009). Using microbial fatty acids to improve understanding of the contribution of solid associated bacteria to microbial mass in the rumen. - *Anim. Feed Sci. Technol.* 150, pp. 197-206.
9. **Bhagwat, A. M., De Baets, B., Steen, A., Vlaeminck, B., Fievez, V.** (2012). Prediction of ruminal volatile fatty acid proportions of lactating dairy cows based on milk odd- and branched-chain fatty acid profile: New models, better predictions. - *J. Dairy Sci.* 95, pp. 3926-3937.
10. **Bovenhuis, H., Visker, M. H. P. W., Lunde'n, A.** (2013). Selection for milk fat and milk protein composition. - *Advances in Animal Biosciences*. Vol. 4, No. 3, pp. 612-617.
11. **Calsamiglia, S., Cardazo, P. W., Ferret, A., Bach, A.** (2008). Changes in rumen microbial fermentation are due to a combined effect of type of diet and pH. - *J. Anim. Sci.* 86:378-383.

12. **Calsamiglia, S., Ferret, A., Devant, M.** (2002). Effects of pH and pH fluctuations on microbial fermentation and nutrient flow from a dual-flow continuous culture system.- *J. Dairy Sci.* 85:574-579.
13. **Cequier-Sánchez, E., Rodríguez, C., Ravelo, A. G., Zárate, R.** (2008). Dichloromethane as a solvent for lipid extraction and assessment of lipid classes and fatty acids from samples of different natures. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, pp. 4297–4303.
14. **Chilliard, Y.** (1987). Revue bibliographique: Variations quantitatives et métabolisme des lipides dans les tissus adipeux et le foie au cours du cycle gestation-lactation. – *Reprod. Nutr. Dévelop.* 27:327-98.
15. **Chilliard, Y., A. Ferlay, Mansbridge, R.M., Doreau, M.** (2000). Ruminant fat plasticity: Nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. - *Ann. Zootech.* 49, pp. 181-205.
16. **Chilliard, Y., Ferlay, A., Doreau, M.** (2001). Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated FA. - *Livest Prod Sci.* 70, pp. 31–48.
17. **Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J., Doreau, M.** (2007). Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. - *Eur J Lipid Sci Technol.* 109, pp. 828–855.
18. **Chilliard, Y., Martin, C., Rouel, J., Doreau, M.** (2009). Milk fatty acids in dairy cows fed whole crude linseed, extruded linseed, or linseed oil, and their relationship with methane output. - *J. Dairy Sci.* 92, pp. 5199–5211.
19. **Chiquette, J.** (2009). Evaluation of the protective effect of probiotics fed to dairy cows during a subacute ruminal acidosis challenge. - *Anim. Feed Sci. Technol.* 153, pp. 278–291.
20. **Chouinard, P. Y., Corneau, L., Sæbø, A., Bauman, D. E.** (1999). Milk Yield and Composition During Abomasal Infusion of Conjugated Linoleic Acids in Dairy Cows. – *Journal of Dairy Science.* Vol. 82, pp. 2737-2745.
21. **Christie, W.** (2012). A lipid primer. [on-line] <http://lipidlibrary.aocs.org/Primer/content.cfm?ItemNumber=39321> (23.05.2017)
22. **Christie, W. W.** (1982). A simple procedure for transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. – *The Journal of Lipid Research.* Vol. 23, pp. 1073–1075.
23. **Church, D. C.** (1976). Digestive Physiology and nutrition of ruminants, Vol 1. Second Edition, . O.S.U. Book Stores, Inc., Corvallis, OR. USA.
24. **Clark, J.** (2009). Helping you to understand Chemistry. [on-line] <http://www.chemguide.co.uk/index.html#top> (23.05.2017)
25. **Colman, E., Fokink, W. B., Craninx, M., Newbold, J. R., De Baets, B., Fievez, V.** (2010). Effect of induction of sub-acute ruminal acidosis (SARA) on milk fat profile and rumen parameters. - *J. Dairy Sci.* 93, pp. 4759–4773.

26. **Craninx, M., Beeckman, A., Van Laar, H., Martin-Tereso, J., Fievez, V.** (2007). Diagnosis of acidosis in dairy cattle using milk fatty acid profiles. - *J. Anim. Sci.* 85 (Suppl. (1)), 560–561 (Abstr.).
27. **Dado, R. G., Allen, M. S.** (1994). Variation in and relationships among feeding, chewing, and drinking variables for lactating dairy cows. - *J. Dairy Sci.*, 77, pp. 132–144.
28. **Davis, C. L., Brown, R. E.** (1970). Low-fat milk syndrome. Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant, ED. Phillipson, A. T. pp. 545-65. Newcastle upon Tyne, UK: Orie.
29. **Dewhurst, R. J., Moorby, J. M., Vlaeminck, B., V. Fievez, V.** (2007). Apparent recovery of duodenal odd- and branched-chain fatty acids in milk of dairy cows. - *J. Dairy Sci.* 90, 1775–1780.
30. **Dijkstra, J., van Zijderveld, S. M., Apajalahti, J. A., Bannink, A., Gerrits, W. J. J., Newbold, J. R., Predok, H. B., Berends, H.** (2011). Relationships between methane production and milk fatty acid profiles in dairy cattle. – *Anim. Feed Sci. Technol.* 166-167, 590-595.
31. **Emery, R. S.** (1988). Milk fat depression and the influence of diet on milk composition.– *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 4:289-305.
32. **Fisher, D. S., Burns, J. C., Moore, J. E.** (1995). The nutritive evaluation of forage.– *Forages*, Vol. 1, p 105–115.
33. **Fievez, V., Colman, E., Castro-Montoya, I., Stefanov, Vlaeminck, B.** (2012). Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function-An Update. – *Animal Feed Science and Technology* 172, 51-65.
34. **Folch, J., Lees, M., Stanley, G. H. S.** (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. – *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 226, 497–509.
35. **French, E. A., Bertics, S. J., Armentano, L. E.** (2012). Rumen and milk odd- and branched-chain fatty acid proportions are minimally influenced by ruminal volatile fatty acid infusions. – *Journal of Dairy Science*. Vol. 95, 2015-2026.
36. **Gadeyne, F., Aschemann, M., Ariko, T., Campeneera, S. De., Vlaeminck, B., Lebzién, P., Fievez, V.** (2011). Milk odd- and branched-chain fatty acids: biomarkers to optimize microbial metabolism by ruminants? - *Adv. Anim. Biosci.* 2, 357.
37. **Gama, M. A. S., Garnsworthy, P. C., Griinari, J. M., Leme, P. R., Rodrigues, P. H. M., Souza, L. W. O., Lanna, D. P. D.** (2008). Diet-induced milk fat depression: Association with changes in milk fatty acid composition and fluidity of milk fat. - *Livestock Science* 115, 319-331.

38. **Garrett, E. F., Pereira, M. N., Nordlund, K. V., Armentano, L. E., Goodger, W. J., Oetzel, G. R.** (1999). Diagnostic methods for the detection of subacuteruminal acidosis in dairy cows. - *J. Dairy Sci.* 82, 1170–1178.
39. **Griinari, J. M., Bauman, D. E.** (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W., Nelson, G. (Eds.), *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, vol. 1. AOCS Press, Champaign, IL, 180–200.
40. **Gross, J., van Dorland, H. A., Bruckmaier, R. M., Scharz, F. J.** (2011). Milk fatty acid profile related to energy balance in dairy cows. – *Journal of Dairy Research*. Vol. 78, pp. 479–488.
41. **Gunstone, F. D., Harwood, J. L., Padley, F. B.** (1994). *The Lipid Handbook*. 2nd ed. Chapman and Hall, New York, NY.
42. **Harfoot, C. G., Hazlewood, G. P.** (1988). Lipid metabolism in the rumen. Hobson, P.N., *The Rumen Microbial Ecosystem*. Elsevier Applied Science Publishers, London, UK, 285–322.
43. **Harvatine, K. J., Bauman, D. E.** (2011). Characterization of the acute lactational response to trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid. – *J Dairy Sci.* 94(12):6047–56.
44. **Harvatine, K. J., Boisclair, Y. R., Bauman, D. E.** (2009). Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal* 3, 40–54.
45. **Hofmann, R. R.** (1988). Anatomy of the gastrointestinal tract. *The Ruminant Animal, Digestive Physiology and Nutrition*, Church, D. C., Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ. USA, 14-43.
46. **Holin, F.** (2006). Rationing straw. *Hay & Forage Grower Magazine*.
47. **Ip, C., Singh, M., Thompson, H. J., Scimeca, J. A.** (1994). Conjugated linoleic-acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary-gland in the rat. *Cancer Res.* 54, 1212–1215.
48. **Jaakma, Ü.** (2006). Maaülikool uurib lehma skeletist geenideni. *Horisont*. [on-line] http://www.loodusajakiri.ee/horisont/artikkel638_624.html (24.05.2017)
49. **Jensen, R. G., Newberg, D. S.** (1995). Bovine Milk Lipids – *Handbook of Milk Composition*. Ed. R.G. Jensen. Academic Press, San Diego, CA, 543-575.
50. **Kalscheur, K. F., Teter, B. B., Piperova, L. S., Erdman, R. A.** (1997). Effect of fat source on duodenal flow of trans-C18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. – *J. Dairy Sci.* 80:2115–26.
51. **Kay, J. K., Weber, W. J., Moore, C. E., Bauman, D. E., Hansen, L. B., Chester-Jones, H., Crooker, B. A., Baumgard, L. H.** (2005). Effects of Week of Lactation and Genetic Selection for Milk Yield on Milk Fatty Acid Composition in Holstein Cows. – *Journal of Dairy Science*. Vol. 88, pp. 3886–3893.

52. **Kliem, K.E., K.J. Shingfield, K. J.** (2016). Manipulation of milk fatty acid composition in lactating cows: Opportunities and challenges. - *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 118, 1661–1683.
53. **Kononoff, P., Heinrichs, J., Varga G.** (s. a.). Using Manure Evaluation to Enhance Dairy Cattle Nutrition. Department of Dairy and Animal Science, The Pennsylvania State University.
54. **Krause K. M., Oetzel, G. R.** (2006). Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review *Anim. - Feed Sci. Technol.* 126, 215–236.
55. **Kritchevsky, D., Tepper, S. A., Wright, S., Tso, P., Czarnecki, S. K.** (2000). Influence of conjugated linoleic acid (CLA) on establishment and progression of atherosclerosis in rabbits.- *J. Am. Coll. Nutr.* 19, 472S–477S.
56. **Kärt, O. (2011).** Uurimistulemusi ja seisukohti piimalehmade söötmisel. Eesti Maaülikooli Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut söötmisosakond, Tartu , Trükikoda Pajoprint, 220.
57. **Lindmark Månsson, H.** (2003). Composition of Swedish dairy milk 2001. Swedish Dairy Association; Report Nr 7025-P. (Rootsi keeles)
58. **Liu, Q. , Li, X.** (2016). Effects of *Lactobacillus plantarum* and fibrolytic enzyme on the fermentation quality and *in vitro* digestibility of total mixed rations silage including rape straw. - *Jornual of Integrative Agriculture.*
59. **Loncke, C., Ortigues-Marty, I., Vernet, H., Lapierre, H., Sauvant, D., Noziere, P.** (2009). Empirical prediction of ne portal appearance of valatile fatty acids, glucose, and their secondary metabolites (BEETA-hydroxybutyrate, lactaete) from dietary characteristics in ruminants: A meta-analysis approach. - *J. Anim. Sci.* 87, 253-268.
60. **Lynch, J. M., Barbano, D. M., Bauman, D. E., Hartnell, G. F., Nemeth, M. A.** (1992). Effect of a prolonged release formulation of N-methionyl bovine somatotropin (sometribove) on production and composition of milk fat. - *J. Dairy Sci.* 75, 1794–1809.
61. **McGuire, M. A., Bauman, D.E.** (2003). Milk Biosynthesis and Secretion – Encyclopedia of Dairy Sciences, vol. 3. Eds. Roginski, H., Fuquai, J.W., Fox, P.F. Elsevier Science Ltd, pp 1828-1834.
62. **Meier, S., Verkerk, G. A., Kay, J. K., Macdonald, K. A., Roche, J. R.** (2013). Genetic ancestry modifies fatty acid concentrations in diferent adipose tisuse depots and milk fat. - *Jornual of Dairy Research.* 80, pp 197-204.
63. **Mertens, D. R.** (1986). Effect of physical characteristics , forage particle size and density on forage uilization. Proc. Am. Feed Ingrid. Assoc. Nutr. Sümp. St. Louis, MO. Am. Feed Ingrid. Assoc., Arlington, VA, nov 12-13, 91.
64. **Mertens, D. R.** (1992). Nonstructural and structural carbohydrates, Large Dairy Herd Management. H. H. Van Horn ja C. J. Wilcox, ed. Am. Dairy Sci. Assoc., Champaign, IL, 219.

65. **Mertens, D. R.** (1997). Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. - *J. Dairy Sci.* 80, pp 1463–1481.
66. **Morvary, Y., Bannink, A., France, J., Kebreab, E., Dijkstra, J.** (2011). Evulation of models to predict the stoichiometry of volatile fatty acid profiles in rumen fluid of lactating Holstein cows. - *J. Dairy Sci.* 94, 3063-3080.
67. **Nagaraja, T.G., Titgemeyer, E. C.** (2007). Ruminal acidosis in beef cattle:the current microbiological and nutritional outlook. - *J. Dairy Sci.* 90 (E suppl.), E17–E38.
68. **Nishino, N., Hattori, H.** (2007). Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration silage inoculated with and without homofermentative or heterofermentative lactic acid bacteria. - *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 87, 2420–2426.
69. **Noziere, P., Glasser, F., Sauvant, D.** (2011). In vivo production and molar precentages of volatile fatty acids in the rumen: A quanitavine review by an empirical approach. *Animal* 5, 403-414.
70. **O’Grady, L., Doherty, M. L., Mulligan, F. J.** (2008). Subacuteruminal acidosis (SARA) in grazing Irish dairy cows. - *Vet. J.* 176, 44–49.
71. **O'Donnell-Megaro, A. M., Barbano, D. M., Bauman, D. E.** (2011). Survey of the fatty acid composition of retail milk in the United States including regional and seasonal variations. - *J. Dairy Sci.* 94, 59–65.
72. **Offer, N. W., Marsden, M., Dixon, J., Speake, B. K., Thacker, F. E.** (1999). Effect of dietary fat supplements on levels of n-3 polyunsaturated fatty acids, trans acids and conjugated linoleic acid in bovine milk. – *Anim. Sci.* 69:613–25.
73. **Oll, Ü.** (1994). Söötmissõpetus, Tallinn, trükikoda Valgus.
74. **Owens, F. N., Secrist, D. S., Hill, W. J., Gill, D. R.** (1998). Acidosis in cattle: A review. - *J. Anim. Sci.*, 76, 275–286.
75. **Palmquist, D. L., Lock, A. L., Shingfield, K. J., Bauman, D. E.** (2005). Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. - *Adv. Food Nutr. Res.* 50, 179–217.
76. **Palmquist, D. L., Beaulieu, A. D., Barbano, D. M.** (1993). Feed and animal factors influencing milk fat composition. – *J. Dairy Sci.* 76:1753–71.
77. **Pariza, M. W., Park, Y., Cook, M. E.** (2001). The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog. Lipid Res.* 40, 283–298.
78. **Parodi, P. W.** (1977). Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. - *J. Dairy Sci.* 60:1550-1553.
79. **Pérez, J., Mu~noz-Dorado, J., de la Rubia, J., Martí'nez, J.** (2002). Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. - *International Microbiology.* (5), 53-63. doi:10.1007/s10123-002-0062-3.

80. **Plaizier, J. C., Krause, D. O., Gozho, G. N., McBride, B. W.** (2008). Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. - *Vet. J.* 76, 21–31.
81. **Roche, H. M., Noone, E., Sewter, C., Mc Bennett, S., Savage, D., Gibney, M. J., O’Rahilly, S., Vidal-Puig, A. J.** (2002). Isomer-dependent metabolic effects of conjugated linoleic acid—insights from molecular markers sterol regulatory element-binding protein-1c and LXR alpha. *Diabetes* 51, 1k 2037–2044.
82. **Roginski, H., Fuquay, J. F., Fox, P. F.** (2002). *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Four-Volume Set. Academic Press Vol. 3.
83. **Samsonova, L.** (2015). Laktatsioonijärgu ja lehmade poegimiseelse toitumushinde mõju piimarasva rasvhappelisele profiilile. (Magistritöö) Eesti Maaülikooli Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut. Tartu.
84. **Shingfield, K. J., Griinari, J. M.** (2007). Role of biohydrogenation intermediates in milk fat depression Eur. - *J. Lipid Sci. Technol.*, 109, 799–816.
85. **Sudweeks, E. M., Ely, L.O., Merens, D. R., Sisk, L. R.** (1981). Assessing minimum amounts and from of roughages in ruminant diets: roughage value index system. - *J. Anim. Sci.* 53, 1k 1406.
86. **Sutton, J. D.** (1989). Altering milk composition by feeding. – *J. Dairy Sci.* 72:2801-14.
87. **Sutton, J. D., Broster, W. H., Schuller, E., Napper, D. J., Broster, V. J., Bines, J. A.** (1988). Influence of plane of nutrition and diet composition on rumen fermentation and energy utilization by dairy cows. – *J. Agric. Sci.* 110:261-70
88. **Sutton, J. D., Dhanoa, M. S., Morant, S.V., France, J., Napper, D.J., Schuller, E.** (2003). Rates of production of acetate, propionate, and butyrate in the rumen of lactating dairy cows given normal and low-roughage diets. - *J. Dairy Sci.* 86, 3620-3633.
89. **Sutton, J. D., Schuller, E.** (1974). Rate of production of volatile fatty acids in the rumen of milking cows. – *Proc. Nutr. Soc.* 35:100A (Abstr.)
90. **Zaaijer, D., Kremer, W. D. J., Noorhuizen, J. P. T.** (s. a.). Measuring Grain Particle Size and target.
91. **Zebeli, Q., Aschenbach, J. R., Tafaj, M., Boguhn, J., Ametaj, B. N., Drochner, W.** (2012). Invited review: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. - *J. Dairy Sci.* 95 :1041–1056
92. **Zebeli, Q., Dunn, S. M., Ametaj, B. N.** (2011). Perturbations of plasma metabolites correlated with the rise of rumen endotoxin in dairy cows fed diets rich in easily degradable carbohydrates. - *J. Dairy Sci.* 94:2374–2382.
93. **Tafaj, M., Zebeli, Q., Baes, Ch., Steingass, H., Drochner, W.** (2007). A meta-analysis examining effects of particle size of total mixed rations on intake, rumen digestion and milk

- production in highyielding dairy cows in early lactation. - *Anim. Feed Sci. Technol.* 138:137–161.
94. **Taylor, M. W., MacGibbon, A. K. H.** (2003). Composition and structure of bovine milk lipids. Pages 1-42 in *Advanced Dairy Chemistry. Vol. 2: Lipids* 3rd ed P.F. Fox and P. L. H. McSweeney, ed. Springer, New York, NY.
 95. **Theodorou, M. K., France, J.** (2005). Rumen Microorganisms and their Interactions – Quantitative Aspects of Ruminant Digestion, 2nd edition (Eds. Dijkstra, J., Forbes, J.M., France, J.), CAB International, p. 207-228.
 96. **Thomas, H. S.** (2009). Alternative/emergency feeds for cattle. The beef magazine – Canadian Cattlemen. [e-ajakiri]
<https://www.canadiancattlemen.ca/2009/10/19/alternativeemergency-feeds-for-cattle/>
(23.05.2017)
 97. **Thomas, P. C., Martin, P. A.** (1988). The influence of nutrient balance on milk yield and composition. In, *Nutrition and Lactation in the Dairy Cow*, ed. PC Garnsworthy, pp. 97–118. London: Butterworths.
 98. **Tõlp, J.** (1987). Põllumajandusloomade söötmine, Tartu.
 99. **Undersander, D., Howard, W. T., Shaver, R.** (1994). Forage Analysis Work for you in Balancing Livestock Rations and Marketing Hay: Alfalfa Quality Means Profits, pp 5.
 100. **Vadi, M., Kaldmäe, H., Kirsell, R.** (2003). Taimede arengufaasi mõjust silo toiteväärtusele. – *Agraarteadus*. XIV:1.
 101. **Van Soest, P. J., McQueen, R. W.** (1973). Symposium on Fibre in Human Nutrition, The chemistry and estimation of fibre. – *Proc. Nutr. Soc.* 32:123.
 102. **Vaughan, K. K., Swain, S. M., Armenatano, L. E.** (1991). Effectiveness of NDF from ground corn cobs and weat middlings compared to alfalfa silage. - *J. Dairy Sci.* 74:220.
 103. **Weill, P., Chesneau, G., Chilliard, Y., Doreau, M., Martin, C.** (2009). Method for evaluating the amount of methane produced by a dairy ruminant and method for decreasing and controlling this amount. Patent WO 2009/156453 A1.
 104. **Whigham, L. D., Cook, E.B., Stahl, J. L., Saban, R., Bjorling, D. E., Pariza, M. W., Cook, M. E.** (2001). CLA reduces antigen-induced histamine and prostaglandin E2 release from sensitized guinea pig tracheae. - *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 280, R908–R912.
 105. **Whistler, R. L., Smart, C. L.** (1953). Polysaccharide Chemistry. Academic Press, New York, NY. USA.
 106. **Vlaemick, B., Fievez, V., Cabrita, J., Fonseca, A. J. M., Dewhurst, R. J.** (2006). Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. - *Anim. Feed Sci. Technol.* 131, 389-417.

107. **Vlaeminck, B., Dufour, C., Vuuren, A. M. van, Cabrita, A. R. J., Dewhurst, R. J., Demeyer, D., Fievez, V.** (2005). Use of odd and branched-chain fatty acids in rumen contents and milk as a potential microbial marker. - *J. Dairy Sci.*, 88, 1031–1042.
108. **Ärölä, A., Kraft, J., Toivonen, V., Perajoki, P., Nurmela, K.** (2002). Milk fat depression is associated with a previously unidentified change in CLA profile in bovine milk fat. Abstr. 93rd AOCS Annu. Mtg., Abstr. S1, Champaign, IL: AOCS press.
109. **Yang, M. D., Pariza, M. W., Cook, M. E.** (2000). Dietary conjugated linoleic acid protects against end stage disease of systemic lupus erythematosus in the NZB/W F1 mouse. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 22, 433–449.

SUMMARY

The hypothesis of the study was the opportunity to substitute barley straw with canola straw in diet and thus forward with a higher amount of effective fibre potentially influence the rumen environment, therefore maintaining milk production and quality. The goal of the study was to give a literature review of effective fibre and the importance of it in the diet of dairy cows and milk fatty acid composition and origin. Introduce the potential biomarkers based on milk fatty acid composition and describe the dairy cow's rumen environment and metabolism through them. Also it was hoped to interpret if the digestive fibre evaluation system developed in America could be used for Estonian feeds and diets.

In relation to the study a three period crossover feeding trial was held, where cows from the Muuga PM OÜ dairy farm two groups of early lactation cows were feed different sources of effective fibre, respectively barley or canola straw but a chemically similar composition. Milk and feces samples were collected on the last two days of every three week trial period. The milk samples production and quality traits were analysed in Estonian Livestock Performance Recording Ltd laboratory and the fatty acid composition was determined in Estonian University of Life Sciences raw milk quality laboratory. The feces samples were screened using a analysed with three sieve developed by Penn State university

Based on literature the following assumptions were made:

1. It is important to find a balance of effective fibre and starch while feeding to maintain normal function of the rumen
2. Rumen synthesized volatile fatty acids amount and ratio depends on cows' diet and micro population influenced by it.
3. There are over 400 fatty acids identified form milk, many in very small quantities.
4. Short-and medium chain length and *cis*-configuration fatty acids lower the triglyceride melting point and help to keep milk fat liquid on body temperature
5. Milk fatty acid profile is influenced by many factors, main ones of them are diet composition, phase of lactation and genetics

6. Based on the profile of milk fatty acids it is possible to evaluate the balance of rumen volatile fatty acids and methane emission, identify milk fat depression and subclinical acidosis risk.

The trial carried during the study resulted in no difference was noted in milk production nor quality with the use of different sources of effective fibre in diet. Diet with barley straw resulted in lower milk fat content, but not yield. Therefore tracking the amount of crude fibre in dairy diet both barley and canola straw can be used without influencing milk production.

Diet with canola straw resulted in larger proportions of *de novo* synthesized short chain fatty acids C6:0 and C8:0. At the same time fatty acid C18:1,*n*-7 had a higher proportion with barley straw. Hypothetically the larger proportion of C18:1,*n*-7 is resulted due to lower short chain fatty acid concentration in milk fat triglycerides meltingpoint influenced by milk fat synthesis *cis* configuration with paired chain.

Diet with barley straw had notes in the milk fatty acid composition towards a larger number of cellulolytic bacteria in the rumen comparing to cows feed canola straw. At the same time the methane emission and butyric acid proportion was higher in the rumen fluid when fed canola straw..

One of the acidosis biomarkers C17:1,*n*-7 was higher in diet with barley straw, but other milk fat fatty acid based biomarkers or the prognosed LRH profile did not show signs of extreme changes in rumen environment.

The cows in group A had large variability in milk traits and fatty acid profile. Individual cows showed signs of milk fat depression and notes towards subclinical acidosis.

The method developed in USA for undigestible fiber fraction evaluation in feces with sifting with three sieves was not appropriate with diets including grass silage.

LIHTLITSENTS

Mina, Piia Jairus (isikukood 49011115214)

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud lõputöö Efektiivse kiu allika mõju piima jõudlusnäitajatele ja vatsakeskkonnale, mille juhendaja on lektor Tiia Ariko ja professor Meelis Ots,

1.1. salvestamiseks säilitamise eesmärgil,

1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja

1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil

kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Lõputöö autor

allkiri

Tartus, 24.05.2017

Juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta.

Luban lõputöö kaitsmisele.

(juhendaja nimi ja allkiri)

(kuupäev)

(juhendaja nimi ja allkiri)

(kuupäev)